

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

LA MORPHOLOGIE du microbe de la Péripnéumonie des Bovidés

PAR LE D^r JULES BORDET

Directeur de l'Institut Pasteur de Bruxelles.

J'ai communiqué récemment à la Société royale des Sciences médicales et naturelles de Bruxelles (1) quelques renseignements concernant la forme que le virus de la péripnéumonie revêt dans certaines cultures. Je crois utile de présenter aux lecteurs de ces *Annales* une courte description de cette morphologie, accompagnée de quelques figures représentant des préparations caractéristiques.

Il est fort inutile de rappeler comment le virus de la péripnéumonie a été découvert et cultivé : on sait que Nocard et Roux, avec leurs collaborateurs Borrel, Salimbeni et Dujardin-Beaumetz (2) ont obtenu leurs premières cultures grâce à la très ingénieuse technique des sacs introduits dans le péritoine de lapins. Ces savants purent bientôt fabriquer un milieu liquide (bouillon de préparation un peu spéciale, additionné de sérum de bœuf) capable de servir *in vitro* au développement du microbe ; désormais, la culture *in vivo*, comportant l'emploi des sacs, n'était plus nécessaire, la multiplication du virus s'opérant fort bien à l'étuve dans ce liquide approprié, que l'on ensemait d'un peu de sérosité péripnéumonique recueillie purement. M. Dujardin-Beaumetz, dans un travail très documenté (3), a complété l'étude des caractères de culture et des propriétés du microorganisme.

Seulement, la morphologie de ce virus (si petit qu'on peut lui

(1) Bulletin de la séance de novembre 1909.

(2) Ces *Annales*, 1898.

(3) *Le Microbe de la péripnéumonie et sa culture, étude bactériologique d'un microorganisme à la limite de la visibilité*. Paris, Octave Doin, éditeur, 1900.

faire traverser, comme l'a montré Dujardin-Beaumetz, des filtres Berkefeld ou Chamberland (marque F) avait toujours paru fort indistincte. Les préparations ne montraient guère que des granulations très ténues; on apercevait parfois des formes un peu plus grosses, globuleuses, avec un centre clair, mais il était impossible de reconnaître aux éléments microbiens un aspect bien caractérisé.

A vrai dire, le milieu de culture usité jusqu'ici ne permet généralement pas d'autres constatations. Mais le microbe revêt, comme nous allons le voir, un aspect tout différent dans les milieux très riches en sang de lapin, qu'on incorpore en volume égal à de la gélose ou bien que l'on mélange, dans la proportion d'un demi volume environ, à du bouillon.

Je me suis servi tout d'abord de la gélose sanglante, contenant un peu d'extrait de pommes de terre et de glycérine, préparée suivant la formule qu'avec Gengou j'ai indiquée dans nos recherches sur le microbe de la coqueluche (1). Ayant ensemencé sur la surface de ce milieu solide un peu d'une culture (2) en bouillon-sérum



Fig. 1. — Culture sur milieu solide (gélose ou sang défibriné de lapin) âgée de 3 jours.

de bœuf, que M. Dujardin-Beaumetz avait eu l'obligeance de m'envoyer, je constatai que la gélose, au bout d'un ou deux jours

(1) Ces *Annales*, 1906.

(2) Une autre souche, que je dois également à M. Dujardin-Beaumetz, et qui provenait d'une sérosité péripneumonique envoyée de Russie, s'est comportée de la même façon.

d'étuve, prenait une teinte noirâtre le long de la trainée d'ensemencement, sans toutefois qu'une couche microbienne apparût. Frottant la surface avec une fine baguette de verre, je ramenai de quoi faire une préparation (fixation à l'alcool absolu et coloration au Giemsa). La figure I, qui la représente, montre que le microbe apparaît comme un fin filament qui parfois est simplement arqué, parfois décrit des ondulations flexueuses, des enroulements en S, ou même des spires (1). On trouve aussi des granulations arrondies, dont le centre est généralement moins coloré.

S'agit-il d'un vibrion ou d'un spirochète? A vrai dire, le microbe de la péripneumonie se distingue souvent des spirochètes tels que celui de la syphilis, en ce que l'épaisseur est loin d'être uniforme dans tous les points. Il ne produit pas cette impression de forme régulière, de contour si nettement tracé et défini, de dessin quasi-schématique et si élégant, que donne le virus syphili-

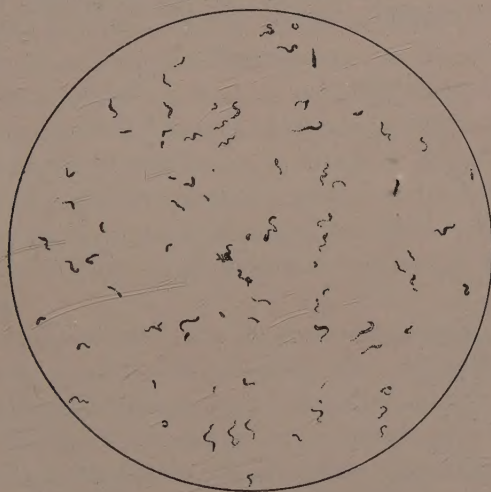


Fig. 2. — Culture en milieu liquide (bouillon additionné de demi-volume de sérum frais de lapin) âgée de 2 jours.

tique. Chez le microbe de la péripneumonie, il y a souvent des renflements occupant une partie plus ou moins considérable du filament; les extrémités sont fréquemment très minces, comme effilées. De même, la colorabilité est loin d'être uniforme. Au

(1) Je n'ai pu, en observant le microbe à l'état frais, constater de mobilité bien caractérisée.

surplus, les divers individus ne sont point pareils, ni comme longueur, ni comme épaisseur, ils ne sont pas non plus tous également colorables. En moyenne, ils sont notablement plus petits que le virus syphilitique.

Si l'on ensemence, aux dépens de semblables cultures, des milieux liquides constitués de deux volumes de bouillon peptonisé ordinaire et d'un volume de sérum ou sang frais de lapin, on obtient, après un ou deux jours, des cultures prospères, franchement opalescentes. S'il contient des globules rouges le liquide devient souvent verdâtre. Le microscope montre qu'il fourmille de filaments analogues à ceux dont il vient d'être question, mais en général un peu plus trapus et plus aisément colorables. On y trouve aussi de rares formes en Y qui, autant qu'on peut être affirmatif lorsqu'il s'agit d'être aussi petits, présentent une véritable ramification. Lorsque la culture est toute récente, âgée de 24 heures par exemple, on n'y voit pas en général beaucoup de

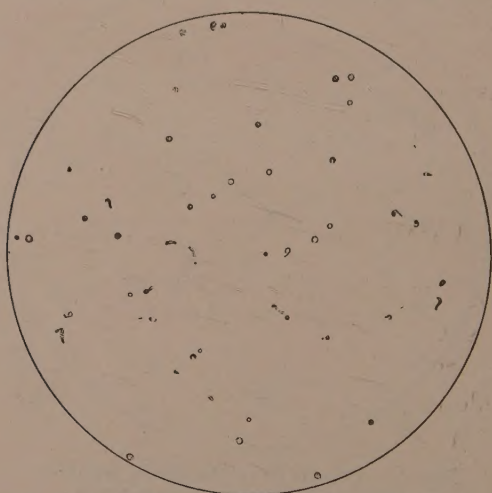


Fig. 3. — Même culture qu'en II, mais après 13 jours d'étuve. Transformation presque totale en granules arrondies, dont le centre est souvent moins coloré.

formes globuleuses (1), de granulations à centre clair. Mais celles-ci deviennent plus nombreuses au fur et à mesure que la culture vieillit, tandis que les formes allongées se font plus clairse-

(1) Il faut noter que ces formes ne sont pas toutes parfaitement sphériques; elles sont parfois un peu anguleuses.

mées. Il est certain dans ces conditions que les globules peuvent dériver des filaments : il s'opère une métamorphose dont la rapidité varie suivant les cultures. Parfois la transformation est généralisée à presque tous les individus microbiens au bout de 2 à 3 jours ; parfois il faut 10 jours ou davantage pour qu'elle affecte la majorité des germes. Ce phénomène de transformation en granules rappelle beaucoup ce qu'on observe dans les cultures de vibron cholérique, qui lorsqu'elles sont vieilles ne montrent plus guère que des points arrondis. Le fait que le centre des granules est souvent moins coloré que la périphérie constitue encore une analogie. On le sait, de telles formes sont généralement désignées sous le nom de « formes d'involution » sans qu'on sache trop en réalité si elles correspondent vraiment toujours à un état de souffrance du microbe considéré. Ceci ne paraît pas être le cas, nous allons le voir, pour les formes arrondies du virus de la péri-pneumonie.

On peut fort bien obtenir l'aspect filamenteux, la forme vibrionienne, en cultivant le microbe dans du bouillon additionné non de sérum de lapin mais de sérum de bœuf (1). On y réussit aisément en ensemençant ce liquide avec des microbes développés sur les milieux solides ou liquides au sang de lapin. Toutefois, les préparations sont moins caractéristiques, les filaments deviennent plus courts et moins nombreux, la forme en granules tend à prédominer. Elle s'observe même presque exclusivement dans la suite si l'on pratique des repiquages successifs dans ce milieu au sérum de bœuf, sans avoir désormais recours à la culture sur gélose-sang.

On est porté à considérer les formes allongées, vibrioniennes ou spirillaires, comme plus normales, plus physiologiques que ne le sont les formes globuleuses, et cette opinion est d'autant plus naturelle que celles-ci peuvent résulter, sous l'influence de l'âge, de la transformation des premières. Cependant le bouillon-sérum de bœuf, qui favorise plutôt l'apparition des granules arrondis, doit-il être considéré comme un milieu de culture défectueux ? Eu égard à la morphologie, on serait tenté de le croire, mais on doit reconnaître qu'il fournit des cultures très abondantes, très prospères, et remarquablement résistantes à la conservation, conformément d'ailleurs aux constatations dues à M. Dujardin-Beaumetz. A cet égard, le bouillon-sérum de lapin nous a paru

(1) Le sérum de bœuf que nous avons employé avait été chauffé à 57°.

un peu moins favorable; il n'est pas supérieur au liquide précédent au point de vue de l'intensité de la multiplication. Le fait que le microbe prend la forme de granulations ne prouve donc pas que sa vitalité soit atteinte; probablement même, ces globules représentent-ils des formes de résistance. Pour certaines espèces de vibrions, d'ailleurs non pathogènes, que j'ai observées incidemment au cours de diverses recherches, j'ai vu que des cultures très riches, très florissantes, pouvaient se présenter très



Fig. 4. — Culture en milieu liquide (bouillon additionné de demi-volume de sang défibriné de lapin) âgée de 24 h.
Formes très variées.
Imm. homog. 1/12 ocul. 4. Leitz.

vite sous forme de granules arrondis, à l'exclusion de la morphologie vibrionienne normale.

La solution de Giemsa est le colorant de choix. Il vaut mieux l'employer à chaud : on étale sur lame, en couche assez mince, une gouttelette de culture; après dessiccation on fixe pendant quelques minutes par l'alcool absolu, on dessèche, on verse sur la lame 2 c. c. d'eau distillée qu'on a additionnée, au moyen d'un tube effilé (les gouttes sont donc assez petites) de 5 gouttes de la solution de Giemsa. On chauffe jusqu'à émission de vapeurs assez fortes pendant 1 ou 2 minutes, on laisse refroidir 5-10 minutes, on lave et dessèche.

Le violet de gentiane colore assez fortement, mais ce réactif, on le sait, donne trop facilement des taches.

Le bleu de toluidine (1), lorsqu'on s'en sert pour colorer les cultures en milieu liquide, donne des préparations remarquables en ce sens qu'on n'y distingue, même lorsqu'elles sont fort riches en formes vibrioniennes (décelables par le Giemsa), que des points bleus très petits. Ce réactif est donc impropre à mettre en évidence l'aspect filamenteux, ce qui prouve bien l'inégale répartition de la substance microbienne particulièrement chromophile. Il est curieux de comparer 2 préparations de la même culture, dont l'une est teinte au Giemsa, l'autre à la toluidine, et qui montrent, soit les filaments incurvés ou spirillaires que nous avons signalés, soit simplement une fine ponctuation bleue. On ne se douterait pas qu'il s'agit du même microorganisme.

(1) Nous employons communément le bleu de toluidine phéniquée au lieu de bleu de méthylène phéniqué ou de bleu de Loeffler, car il est aussi électif et plus puissant. Formule : bleu de toluidine (Grubler) 5 grammes ; alcool 100 c. c., eau 500 c. c. Quand la dissolution est complète on ajoute 500 c. c. d'eau phéniquée à 5 0/0. On filtre après un jour ou deux. Le liquide est inaltérable.

Le microbe de la Péripleumonie.

PAR MM. BORREL, DUJARDIN-BEAUMETZ, JEANTET ET JOUAN

Bordet, en colorant par la méthode de Giemsa des cultures pures du microbe de la péripleumonie, a signalé des formes spéciales (pseudo-vibrionniennes) que prend le microbe, surtout sur un milieu spécial, gélose au sang de lapin. A la suite de ses observations, cet auteur pense que le microbe de la péripleumonie doit être rapproché des spirilles ou spirochètes.

Nous avons repris l'étude de ce microbe au point de vue morphologique; microbe intéressant, puisque c'est le seul virus filtrant que l'on ait obtenu en culture pure. Les données morphologiques qu'il nous a fournies serviront sans doute de point de repère pour bien d'autres microbes, et peut être pour les virus des Epithélioses.

Nous avons utilisé dans cette étude, non pas seulement la coloration par le Giemsa, mais l'examen à l'état vivant, l'examen ultra-microscopique et la surcoloration après mordantage.

Pour les surcolorations, le microbe a toujours été prélevé dans les cultures en milieu liquide, et par centrifugation d'après la technique indiquée déjà par l'un de nous. La culture en bouillon-sérum de bœuf ou en bouillon-sérum-glucose, milieux couramment employés depuis la découverte du microbe à l'Institut Pasteur, est prélevée au 1^{er} jour, au 2^e, au 3^e, etc., elle est centrifugée dans un tube à fond effilé; les microbes, grâce à une centrifuge puissante (modèle Jouan), sont accumulés dans l'effilure du tube et débarrassés du liquide de culture; on peut laver le culot une fois ou deux par l'eau physiologique.

Pour la surcoloration avec le Loeffler, nous avons cru d'abord devoir laver les microbes, mais ensuite, nous avons pu nous rendre compte qu'il suffisait de tasser les microbes dans l'effilure; les préparations obtenues sont suffisamment pures, le tube est renversé, vidé de tout le bouillon de culture, égoutté. Les microbes pré-

levés sont étalés en couche mince sur la lame comme s'il s'agissait d'une préparation de sang et fixés soit par l'alcool, soit par la chaleur, sans avoir subi l'action d'aucun liquide de dilution : ils sont examinés en somme dans le liquide même de la culture ; étant donnée la plasticité très grande de ce microbe, ces précautions ne sont pas inutiles.

Nous nous sommes rendus compte que l'étude des colonies développées sur les milieux solides ordinaires est à peu près impossible.

Les figures dessinées ci-contre montrent la variété des formes

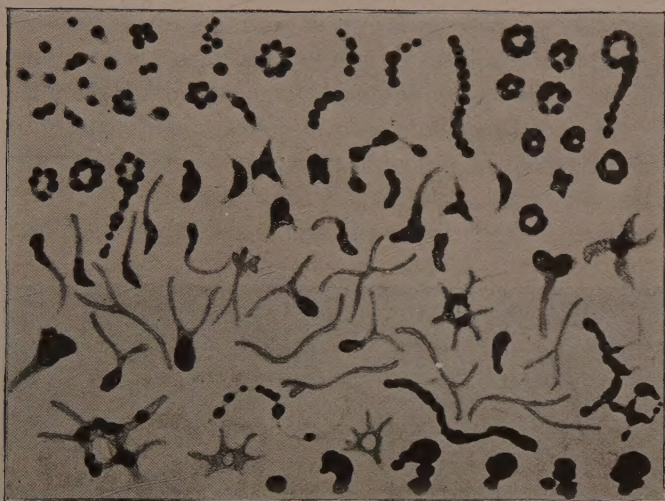


Fig. T. — Différentes formes du microbe dessinées d'après des préparations d'âges variés $\frac{5000}{1}$. De haut en bas, les formes sont de plus en plus vieilles.

que peut prendre ce microbe essentiellement polymorphe dans son développement et dans ses formes d'involution.

Ayant constaté dans nos cultures à certains moments, vers le 3^e-4^e jour, les formes que Bordet considère comme spéciales à son milieu, sang lapin gélosé-pomme de terre, nous avons délaissé ce milieu peu propice et sur lequel l'étude morphologique par la surcoloration est difficile ; il est en particulier malaisé de prélever des microbes, au début de la culture, sans prélever en même temps de la sérosité du milieu ; et si l'on attend que les

colonies soient développées, la substance glaireuse qui engaine les microbes est à peu près impossible à résoudre.

Une première étude nous a montré l'influence de l'âge sur la morphologie du microbe; l'addition de glucose donne des cultures plus abondantes, mais ne modifie pas sensiblement les formes qui se succèdent plus ou moins rapidement au fur et à mesure que les cultures vieillissent; nous pouvons dire déjà que les formes vibrionniennes ou spirillaires de Bordet ne sont qu'un des aspects que peut prendre le microbe ultra-polymorphe de la péripneumonie, que la coloration par le Giemsa est réellement trop faible pour cette étude et que beaucoup de formes (les plus intéressantes) passent inaperçues ou indéfinissables.

Il est déjà fort difficile, même avec la surcoloration, et en examinant chaque jour des prélèvements faits dans une même culture, de faire la part de ce qui revient aux formes de multiplication et aux formes d'involution; c'est pourtant ce que nous avons essayé de faire.

L'examen à l'état frais, en vision ordinaire, ne donne pour



Fig. U. M. — Différents aspects du microbe de la péripneumonie à l'ultra-microscope. Même grossissement que ci-dessus. $\frac{5000}{1}$

ainsi dire aucun renseignement, les cultures, quel que soit leur âge, ne montrent que des points indéfinissables ou des agglomé-

ractions indéterminées, animées du seul mouvement brownien. Le microbe est absolument immobile, à tous les âges de la culture, ce qui élimine d'une façon absolue l'hypothèse d'un vibrion ou d'un spirille ou d'un spirochaete plus ou moins semblable aux microbes de la syphilis ou des spirilloses.

L'examen ultra-microscopique confirme cette donnée et montre soit des points isolés, soit des diplocoques, soit des groupements de 3, 4, 5 individus manifestement englués dans une gangue à peine visible; les groupes de granulations ainsi visibles sont en même temps entraînés dans le liquide et chevauchent les uns sur les autres, donnant l'impression de masses coulantes et visqueuses. Assez souvent, à l'ultra-microscope, surtout dans les cultures de 4-5 jours, etc., on constate des formes filamenteuses, des chaînettes d'individus ou de granulations dans une gaine peu apparente; plus tard, ces filaments prennent un aspect fantôme, les granulations disparaissent, le filament est pâle et grêle; des filaments ramifiés, des asters apparaissent; dans la préparation observée assez longtemps, les filaments se réunissent bout à bout et finissent par s'agglutiner. Toutes ces formes vues à l'ultra-microscope existent réellement et se retrouvent par la surcoloration, on peut comparer les images obtenues dans les deux cas. Figures T et UM.

Plus instructives sont les images obtenues après coloration des microbes récoltés par centrifugation.

En vision ordinaire, au microscope et quel que soit l'éclairage ou le grossissement employé on n'aperçoit que des points indéfinissables.

Par le Giemsa, on trouve des formes arrondies, des formes ovoïdes, des formes pseudo-vibrionniennes et des formes filamenteuses, mais cette méthode de coloration, même très bien réussie, est trop faible, elle laisse dans l'ombre bien des points qu'éclaire mieux la coloration par la fuchsine après mordantage.

La figure T donnée ci-dessus, obtenue par cette méthode, donne une idée d'ensemble des différentes formes qui ont pu être relevées, elles sont dessinées à peu près dans l'ordre chronologique établi sur de très nombreux examens, et en particulier par l'étude faite au jour le jour d'une même culture gardée à l'étuve. Tous les jours, on prélevait dans la culture la quantité de microbes nécessaires pour l'étude après centrifugation.

Le microbe de la péripneumonie est entouré d'une gangue muqueuse, peu visible à l'état frais ou à l'ultra-microscope, mais très visible par la surcoloration, à peine visible par le Giemsa. Dans cette gangue, le microbe peut se diviser et, suivant plusieurs directions de l'espace, il est en diplocoque ou en amas ou en chaînettes; dans les amas, les individus peuvent être de grosseur différente; dans l'amas ou la chaînette de microbes, chaque unité microbienne peut se diviser, d'où des bifurcations, des formes astéroïdes très particulières; la disposition tri-polaire⁷ est fréquente, plus fréquente encore la disposition bi-polaire ou pseudo-vibronienne.

Dans la figure T les formes⁸ dessinées en haut sont celles

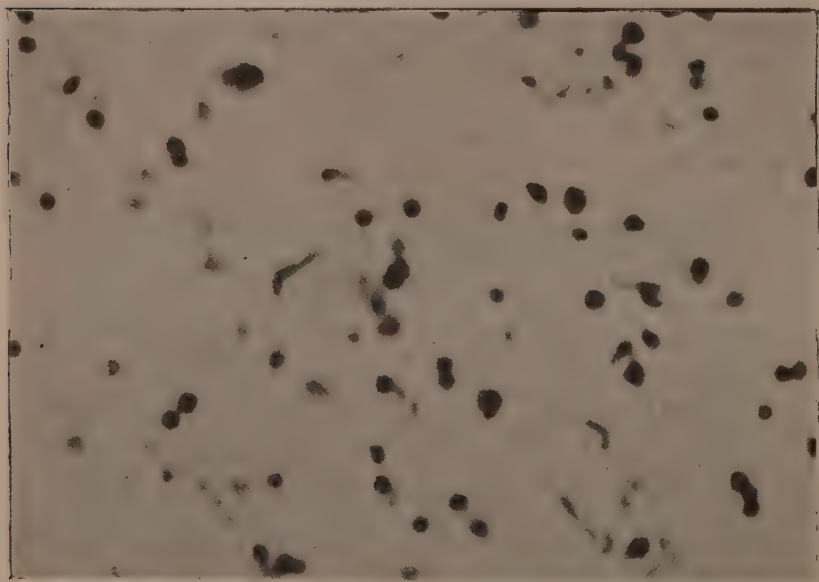


Fig. 1. — Formes très jeunes du microbe, granulations rondes ou ovoïdes; la gangue est peu visible. Surcoloration $\frac{5000}{1}$. Culture de 24 heures.

qui nous ont paru les plus constantes dans les jeunes cultures — 24 heures à 48 heures; — rarement la forme du microbe est absolument sphérique, le centre est brillamment coloré en rouge, la périphérie est floue avec des prolongements coniques, courts, certains diplocoques rappellent en petit le pneumocoque. La

disposition annulaire des individus est très fréquente et l'anneau peut se prolonger en un filament ou chaînette. Voir les fig. 1 et 2 ci-contre.

Dans certaines préparations — du 3^e jour, 4^e jour — la forme

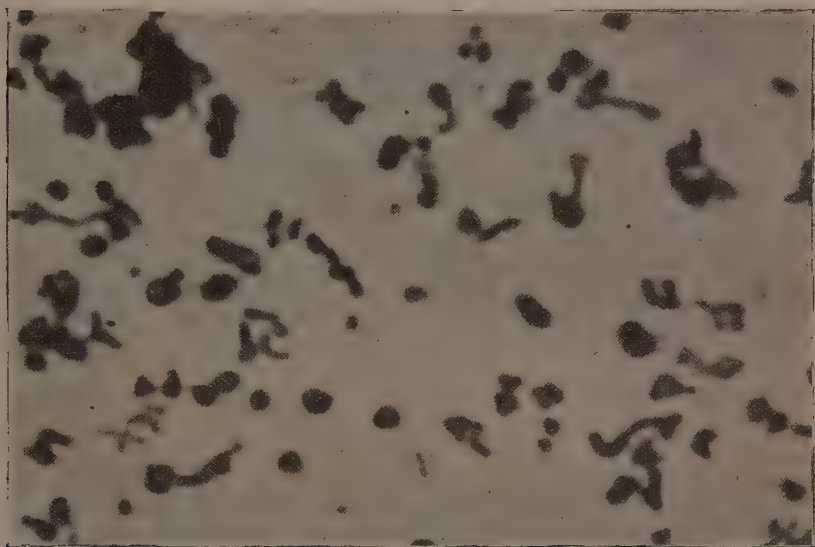


Fig. 2. — Formes de multiplication en tétrades, morulas, anneaux dans une gangue colorée par la surcoloration. — Formes astéroïdes et début de formes filamenteuses. — Surcoloration — $\frac{5000}{1}$. Culture 36 heures.

pseudo-vibrionienne est dominante, amas central fortement coloré et prolongement muqueux long. Dans l'amas central sont inclus deux ou trois individus, dans le cas de trois unités microbiennes la figure a l'aspect d'un tricorne. Voir les figures 3 et 4.

La figure 2 est particulièrement intéressante, elle montre les amas de granulations en tétrades, morulas, qui peuvent bourgeonner et donner naissance à des filaments; ce stade marque le début des formations astéroïdes.

Les formes filamenteuses sont quelquefois précoces (2^e jour); elles sont constantes dans les cultures de 5 et 6 jours; les figures 5, 6, 7 montrent le développement des filaments aux dépens d'amas primitivement ovoïdes, qui s'allongent de plus en plus. A l'intérieur des filaments, l'ultra-microscope montre des gra-

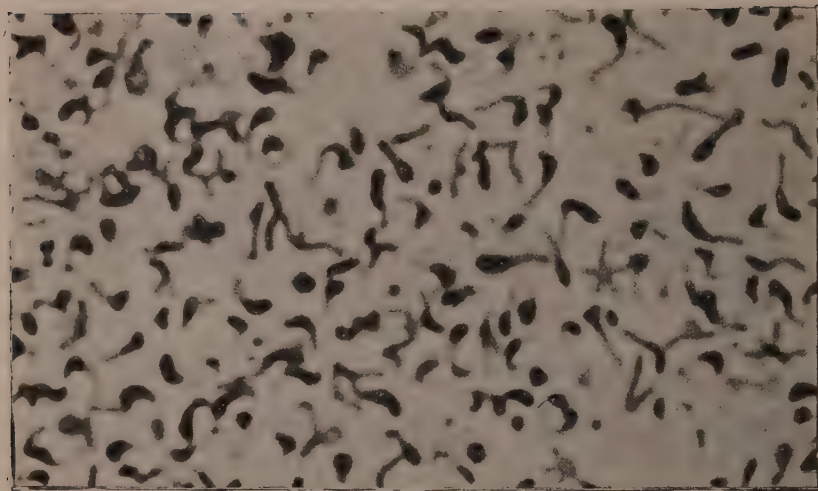


Fig. 3. — Formes pseudo-vibrionniennes et formes à polarités multiples. Certains individus rappellent le microbe des nodosités des légumineuses. Surcoloration $\frac{5000}{1}$. Culture de 3 jours en bouillon-sérum.

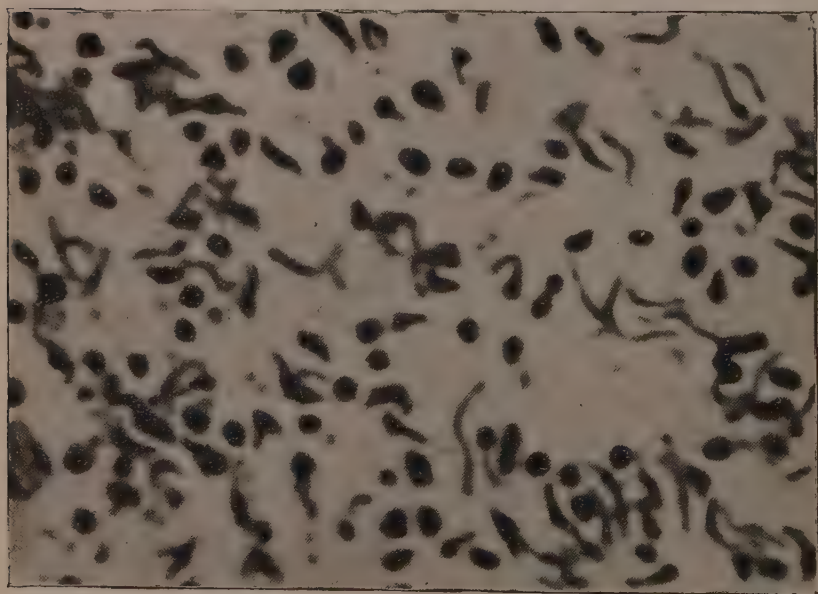


Fig. 4. — Formes rondes, ovoïdes, vibrionniennes, début des formes filamenteuses. Surcoloration $\frac{5000}{1}$. Culture de 48 heures.

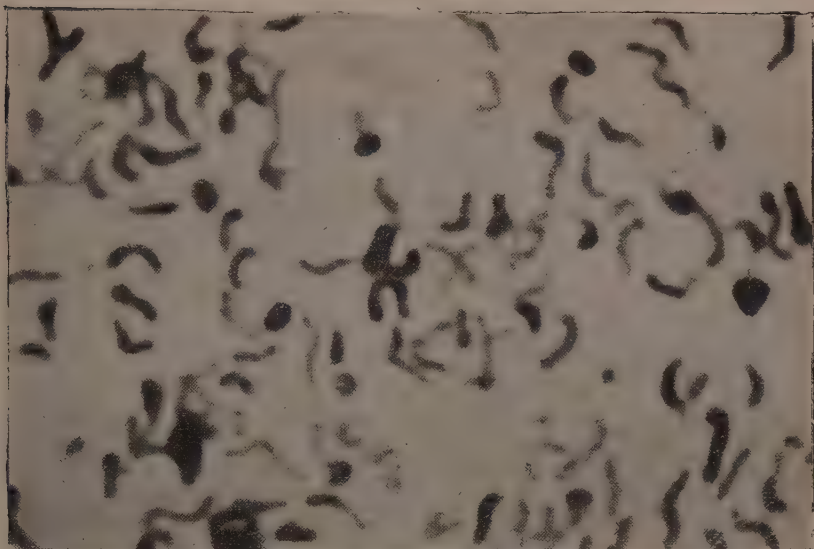


Fig. 5. — Début des formes filamenteuses et ramifiées, la photographie montre bien la différence de coloration des formes filamenteuses plus ou moins granuleuses à l'ultra-microscope. Surcoloration $\frac{5000}{1}$. Culture de 5 jours.

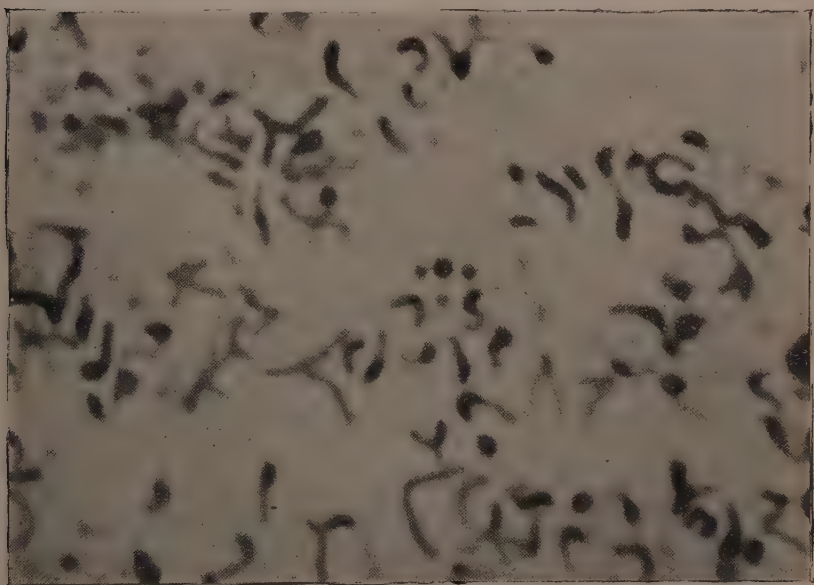


Fig. 6. — Formes vibrioniennes, formes bi et tri-furquées, formes astéroïdes; les formes les plus jeunes sont le plus brillamment colorées. Surcoloration $\frac{5000}{4}$. Culture de 4 jours.

nulations en streptocoques; la surcoloration ne permet pas de de les distinguer toujours; à côté de filaments fortement colorés

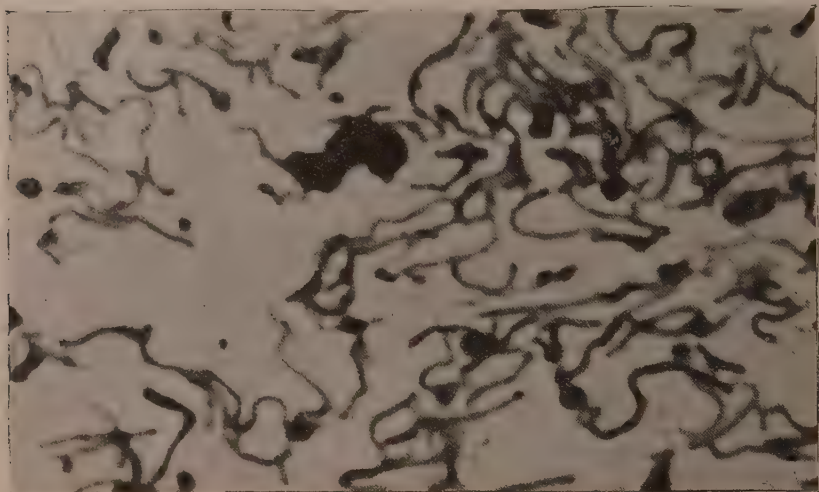


Fig. 7. — Culture totalement filamenteuse surcoloration $\frac{5000}{4}$. Culture de 5 jour.

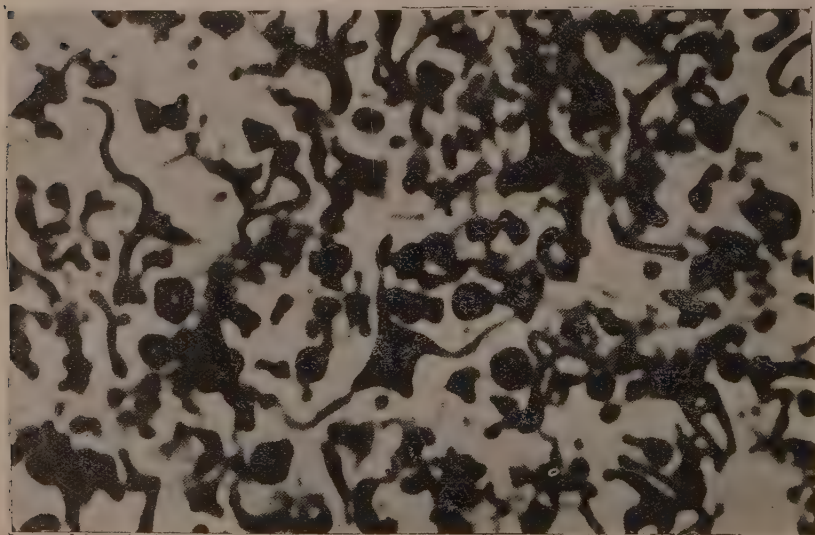


Fig. 8. — Formes d'involution énormes. — Surcoloration $\frac{5000}{4}$. Culture de 6 jours.

et vivants, le microscope montre des filaments plus minces, pâles, à peine colorés, bifurqués, trifurqués, astéroïdes qui commencent les formes d'involution.

Enfin, les figures 8 et 9 donnent l'aspect de très vieilles

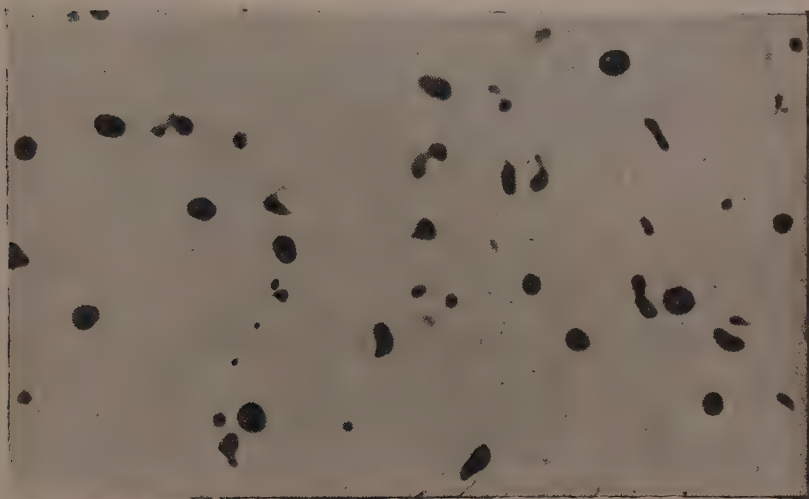


Fig. 9. — Involution en granule. — Surcoloration $\frac{5000}{1}$. — Culture de 12 jours.

cultures avec les formes les plus extraordinaires de l'involution et de la coalescence de substances muqueuses secrétées par les individus vieillis; culture de 12 et 15 jours.

La figure A est une photographie d'une préparation colorée au Giemsa.

La figure B est une photographie obtenue avec une préparation que M. Bordet a envoyée récemment à l'Institut Pasteur, un globule rouge est partiellement visible sur la figure. La préparation colorée au Giemsa montre, faiblement colorées, les formes principales du microbe.

La description que nous venons de donner du microbe étudié et les photographies admirablement faites par M. Jantet démontrent à notre avis que le microbe de la péri-pneumonie n'est pas un vibrion ou un spirille. Par les colorations ordinaires, il est à peu près indéfinissable, si on ne prend pas la précaution de centrifuger les cultures. Le Giemsa ne donne que d'insuffisants

renseignements. La méthode que nous avons employée nous a permis d'obtenir des préparations très pures où tous les éléments photographiés représentent des éléments microbiens, sans préci-

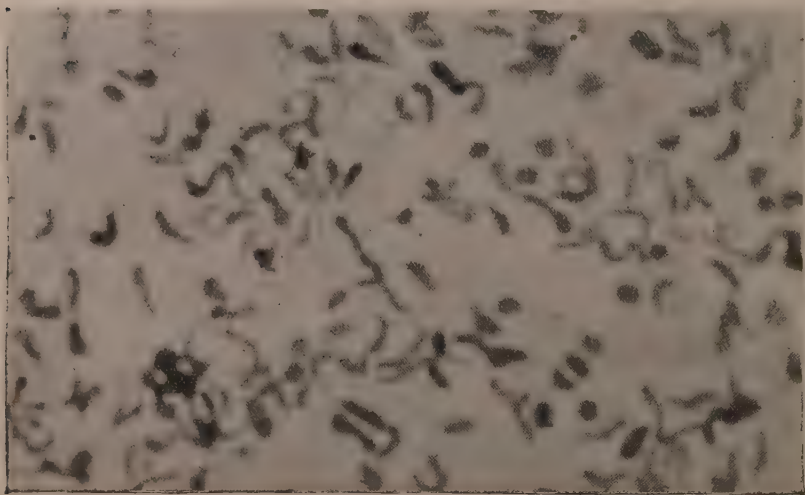


Fig. A. — Culture de 4 jours. Centrifugée, colorée par le Giemsa. — $\frac{5000}{1}$.

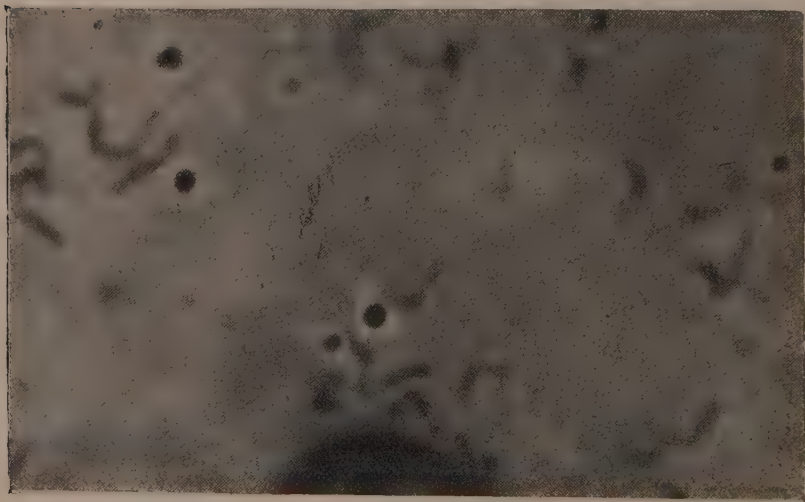


Fig. B. — Préparation originale de Bordet, colorée au Giemsa. — $\frac{5000}{1}$.

pitité d'aucune sorte. Le grand nombre d'individus photographiés permet de se faire une idée exacte du polymorphisme extraordinaire de ce microbe diplocoque, tétragène, morula ou filaments-chainettes, noyés dans une gangue visqueuse. De la présence de cette gangue résultent toutes les formes qui peuvent être observées et la formation de véritables filaments mycéliens.

La division suivant plusieurs directions de l'espace est surtout à noter et donne des figures qui rappellent certains aspects du microbe des nodosités des légumineuses, l'ultra-microscope démontre que ces bifurcations et ces polarités multiples tiennent à la présence de granulations streptococciques qui se divisent quelquefois perpendiculairement à la direction du filament principal.

Le nom de « *Asterococcus mycoïdes* » que nous proposons rappelle les principaux caractères de ce microbe intéressant : gaine muqueuse, filaments pseudo-mycéliens, polarités multiples.

Il est difficile en l'état actuel de le comparer à d'autres types puisqu'il est le seul connu de son espèce, mais on peut déjà prévoir qu'il ne restera pas isolé dans ce groupe et l'un de nous pense que certaines formes vues dans les cellules vaccinales, varioleuses, claveleuses s'expliquent très bien par certaines des formes décrites ci-dessus.



Recherches sur la Cellase

nouvelle diastase dédoublant le Cellose

PAR MM. GABRIEL BERTRAND ET M. HOLDERER

L'hydrolyse complète de l'amidon et celle de la cellulose donnent un produit unique : le glucose ordinaire. Aussi a-t-on pensé d'abord que les deux saccharides avaient la même constitution chimique et ne différaient l'un de l'autre que par le degré de condensation moléculaire. Les recherches, relativement récentes, de Skraup et König (1) sur l'hydrolyse partielle de la cellulose, démontrent, au contraire, qu'il y a une différence profonde entre cette substance et l'amidon : elle fournit, comme avant-dernier terme, du cellose et non du maltose.

En vue d'élucider le problème de la digestion diastasique de la cellulose, dans le but aussi de préciser certaines relations entre les diastases et les saccharides, il était donc intéressant de rechercher s'il existe une diastase particulière, une cellase, différente de la maltase.

E. Fischer et G. Zemplén(2) se sont déjà préoccupés de résoudre cette question : pour eux, c'est l'émulsine qui dédoublerait le cellose. Cependant ils n'ont pas trouvé que la macération d'*Aspergillus niger* qui, on le sait, secrète abondamment de l'émulsine, hydrolyse le cellose. On va voir que nos recherches conduisent, au sujet de l'hydrolyse diastasique du cellose, à des résultats tout à fait différents.

Nous avons préparé le sucre nécessaire à nos expériences d'après les indications de Maquenne et Goodwin (3). Ce sucre avait comme pouvoir rotatoire $=(\alpha)_D^{20} 33^{\circ}87$ en solution à 10 0/0 et à

(1) *Berichte*, t. XXXIV, p. 1115 (1901).

(2) *Ann. der Chem.*, t. CCCLXV, p. 1, (1909).

(3). *Bull. Soc. chim.*, 3^e série, t. XXXI, p. 854 (1904).

la température de $+ 19^{\circ}5$. Skraup et König indiquent $+ 33^{\circ}7$, Maquenne et Goodwin $+ 34^{\circ}$.

Nous avons déterminé son pouvoir réducteur en suivant la technique exposée par l'un de nous (1). Cette opération préliminaire était indispensable pour apprécier, dans la suite, qualitativement et quantitativement, la transformation diastasique du cellose en deux molécules de glucose. Nous avons trouvé :

Poids de cellose.	Poids de cuivre.
10	14,4
20	27,9
40	55,8
50	67,7
60	82,2
90	124,5

En traçant la courbe du pouvoir réducteur d'après ces chiffres, on obtient presque une droite, comme avec le maltose, mais la flèche est plus petite encore. En moyenne, 1 milligramme de cellose précipite 1mgr.38 de cuivre. Comme le pouvoir réducteur moyen du glucose est de 1 mgr. 91, le cellose réduit donc 28 0/0 de fois de moins que le glucose. Il est ainsi facile de mesurer l'hydrolyse du cellose par l'augmentation du pouvoir réducteur.

Les expériences diastasiques que nous avons entreprises ont montré d'abord que la maltase est inactive sur le cellose. Comme source de maltase, nous avons pris le sérum aseptique de cheval normal.

0 gr. 100 de cellose ont été placés dans un tube à essais bouché avec de l'ouate et, après stérilisation à $+ 115^{\circ}$ pendant $1/4$ d'heure, ce qui n'hydrolyse pas le cellose, nous avons ajouté, aseptiquement, 5 c.c. de sérum. Le mélange a été laissé 2 jours à l'étuve à $+ 37^{\circ}$, puis déféqué et analysé. Pour cela, on y a versé goutte à goutte, en remuant, un très léger excès de sulfate mercurique; après filtration et lavage du précipité, on a neutralisé presque exactement avec de la soude, ramené à 50 c. c. et précipité le mercure dissous par agitation avec de la poudre de zinc. Enfin, on a filtré et déterminé le pouvoir réducteur sur 20 c. c. correspondant à 40 milligrammes de cellose. D'autre part, on a préparé un second tube, semblable en tous points au premier, mais

(1) GABRIEL BERTRAND, *Bull. Soc. Chim.*, 3^e série, t. XXXV, p. 1285 (1906).

on a déféqué et analysé son contenu aussitôt après le mélange du sérum avec le sucre (1).

Le tube laissé à l'étuve a donné 55 milligrammes 9 de cuivre, et le tube analysé immédiatement 53 milligrammes 9.

La différence est de l'ordre de grandeur des erreurs expérimentales et l'on peut admettre que le sérum est resté sans action sur la cellose. Or, ce sérum renfermait de la maltase puisqu'une expérience témoin, réalisée sur deux tubes préparés comme ci-dessus avec du maltose au lieu de cellose, accusait un dédoublement de plus de 90 0/0.

Le tube laissé à l'étuve a donné, en effet, 74 mgr. 7 de cuivre et le tube analysé aussitôt après le mélange 43 mgr. 8.

Nous avons alors cherché si la macération aqueuse d'*Aspergillus niger*, préparée d'après la méthode, un peu modifiée de Duclaux (2), ne renfermerait pas une diastase capable de dédouble la cellose.

La moisissure fut cultivée aseptiquement dans de grands matras de 2 litres renfermant chacun 250 c. c. de liquide de Raulin. Après 4 jours à $+ 35^{\circ}$, le feutre mycélien, complètement sporulé, fut lavé plusieurs fois et rapidement à l'eau stérile, puis laissé 3 jours en contact avec 150 c. c. d'eau stérile, dans l'étuve à $+ 35^{\circ}$. La macération fut alors puisée aseptiquement pour l'usage.

Des expériences préliminaires, analogues aux précédentes, mais effectuées avec du cellose (0 gr. 050) et de la macération d'*Aspergillus* (de 2 à 8 c. c.), ont montré qu'il était possible d'obtenir facilement (après 2 jours à l'étuve) une hydrolyse de 80 à 90 du sucre mis en œuvre. Nous avons alors fait agir, toujours aseptiquement, 400 c. c. de macération d'*Aspergillus* sur 4 grammes de cellose.

Après 3 jours de contact, à la température de $+ 37^{\circ}$, nous avons trouvé que le dédoublement était presque total. Nous avons alors distillé la solution dans le vide, repris le résidu par l'alcool bouillant, filtré et distillé à nouveau dans le vide à consistance de sirop. Celui-ci, amorcé avec une trace de glucose pur, n'a pas tardé à se prendre en masse. On a séparé les cristaux à la presse.

(1) Nous avons opéré ainsi et non avec du sérum chauffé, parce que, dans ce dernier cas, la formation d'un coagulum abondant aurait trop changé les conditions du traitement mercurique.

(2) *Chimie biologique*, Paris (1883).

Il y en avait 3 gr. 67. Pour s'assurer que c'était bien du glucose, on les a dissous dans l'eau et, sur le volume amené à 100 c. c., on a pris à la fois le pouvoir rotatoire et le pouvoir réducteur. Calculés en glucose, le premier indiquait 3 gr. 23 (1) et le second 3 gr. 28. En outre, on a chauffé une partie du liquide avec de l'acétate de phénylhydrazine : l'osazone, séparée avec un bon rendement, avait l'aspect au microscope, l'insolubilité dans l'alcool méthylique et le point de fusion (vers $+ 232^{\circ}$ au bloc Maquenne) de la glucosazone. Le cellose avait donc bien été dédoublé et transformé presque entièrement en glucose.

Le résultat négatif obtenu par E. Fischer et G. Zemplén tient évidemment au mode opératoire, différent du nôtre, employé par ces savants. Au lieu de se servir d'une solution aseptique d'*Aspergillus* préparée par plasmolyse du mycélium frais, ils ont suivi la méthode de Bourquelot dans laquelle on utilise l'extrait filtré de champignon sec (2). Or, la cellase est facilement retenue à l'intérieur des tubes mycéliens et par les parois du filtre de porcelaine, tout au moins lorsque le milieu dans lequel on veut la dissoudre est acide à l'hélianthine, condition qui est souvent réalisée, par exemple, quand le mycélium n'a pas été suffisamment lavé. Pour que la cellase passe en dissolution, même à travers les filtres de porcelaine, il faut que le liquide soit alcalin à l'hélianthine, mais neutre ou très légèrement acide à la phthaléine. Elle se comporte donc exactement de la même façon que la sucrase, étudiée d'abord à cet égard par l'un de nous (3). Il nous est arrivé à nous-même, dans nos premières expériences, de constater l'inactivité complète d'une macération d'*Aspergillus* filtrée qui, cependant, dédoublait très bien le cellose avant son passage à la bougie. Les tubes, renfermant chacun 0 gr. 050 de cellose et 8 c. c. de macération, avaient donné, après 24 heures de contact à $+ 37^{\circ}$.

	Culvre réduit.	Cellulose dédoublé.
Avec la diastase filtrée.....	68 mgr.	0 0/0
— — non filtrée	98,5	88 0/0
— — bouillie.....	68 mgr.	0 0/0

Nous avons, plus tard, dans une expérience effectuée avec une autre macération, neutralisé presque exactement à la phthaléine,

(1) En supposant $\alpha_d = + 52^{\circ} 5$.

(2) *C. R. Ac. Sc.*, t. CXVI p. 826 (1893).

(3) M. HOLDERER, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXLIX, p. 1153 (1909).

par addition de soude, puis filtré à la bougie Chamberland F; ensuite, nous avons, aseptiquement, ajouté au liquide la quantité juste nécessaire d'acide chlorhydrique pour saturer la soude introduite. Deux tubes, renfermant chacun 0 gr. 050 de cellose, ont alors été stérilisés; on a ajouté à l'un 2 c. c. de la solution diastasi-que bouillie, à l'autre, 2 c. c. de la même solution non bouillie. Après 16 heures de contact, dans un bain-marie à + 55-56°, on a dosé le pouvoir réducteur; on a trouvé :

	Cuivre réduit.	Cellose dédoublé.
Avec la diastase bouillie.....	67 mgr. 5	0 0/0
— — non bouillie....	96 —	80 0/0

D'après cette expérience, réalisée avec toutes les précautions d'aseptie, l'hydrolyse du cellose est bien de nature diastasique; elle n'est pas due, comme on pourrait peut-être l'objecter, à l'action de quelques spores restées en suspension dans la macération d'*Aspergillus niger*.

Reste à savoir si cette hydrolyse est provoquée par une diastase spécifique, par une cellulase?

La macération d'*Aspergillus* renferme, comme de nombreuses observations l'ont démontré, toute une série de diastases hydrolysantes des saccharides, parmi lesquelles la maltase, la sucrase, l'émulsine et la tréhalase ont été complètement ou presque complètement individualisées. Il y avait donc lieu de se demander si la diastase du cellose ne se confondait pas avec l'une d'elles. Les expériences avec le sérum de cheval, rapportées au début de ce travail, ont déjà montré que la maltase n'hydrolyse pas le cellose. C'est là une conclusion à laquelle étaient déjà arrivés E. Fischer et G. Zemplén : ni avec une macération aqueuse de levure desséchée de Froberg, ni avec leur macération d'*Aspergillus*, actives l'une et l'autre sur le maltose, ils n'avaient observé de dédoublement du cellose.

Nous avons reconnu, de plus, que la sucrase était incapable de provoquer l'hydrolyse du cellose. L'expérience a été tentée avec une préparation extraite de la levure haute. (Levure[®] de boulangerie.) Nous avons broyé finement, dans un mortier, 1 gramme de levure séchée (préalablement lavée à l'alcool et à l'éther) avec 1 gramme de sable siliceux et très peu d'eau. Lorsque les cellules paraissaient aussi bien déchirées que possible, nous

avons ajouté assez d'eau pour compléter 20 c.c., puis nous avons filtré et fait agir le liquide, à la dose de 2 c. c. pour 0 gr. 050 de sucre, comparativement sur le saccharose et sur le cellose. La réaction a eu lieu à la température de $+ 55^{\circ}$ pendant 15 heures. L'analyse a fourni comme résultats :

	Cuivre réduit.	Sucre dédoublé.
Avec le saccharose.....	66 mgr.	65 0/0
— cellose.....	68 —	0 0/0

Ainsi, la cellase ne peut être confondue avec la sucrase. C'est un résultat auquel il fallait d'ailleurs s'attendre, car la constitution du cellose et celle du saccharose n'ont aucun rapport l'une avec l'autre.

La distinction de la cellase d'avec l'émulsine et la tréhalase est plus difficile à établir, car il n'y a pas actuellement de sources connues de ces diastases qui puissent être considérées comme suffisamment exclusives.

E. Fischer et G. Zemplén ont trouvé que le cellose, en solution avec la moitié de son poids d'émulsine commerciale, subissait un dédoublement notable quand on l'abandonnait 32 heures à la température de $+ 36^{\circ}$. Nous avons obtenu, en opérant aseptiquement, avec une solution d'émulsine que nous avons extraite des amandes d'abricots, un résultat analogue. La solution diastasique à 0, 5 0/0, filtrée à la bougie Chamberland, fut ajoutée, à la dose de 2 c. c., à 0 gr. 050 de cellose préalablement stérilisé. Après une nuit de contact dans un bain marie à $+ 46^{\circ}$ nous avons trouvé :

	Cuivre réduit.	Sucre dédoublé.
Avec la diastase.....	89 mgr.	44 0/0 env.
Sans la diastase.....	68,6	0

Mais les préparations diastasiques retirées des amandes douces et des amandes d'abricots ne renferment pas que de l'émulsine. Il en est de même des préparations extraites de l'orge et du malt qui, d'après les recherches de l'un de nous (1), hydrolysent à la fois l'amygdaline, le cellose, le saccharose, le tréhalose, etc.

E. Fischer G. Zemplén pensent, d'après leur expérience rapportée ci-dessus, que l'émulsine dédouble le cellose et en tirent la

(1) M. Holderer, lequel a communiqué les principaux résultats exposés dans ce mémoire au dernier Congrès international de chimie tenu à Londres. Voir notamment *Wochens. f. Brauerei*, t. XXVI, p. 380 (juin 1909).]

conclusion que le sucre de Skraup et König est, avec l'isomaltose, le gentiobiose et le lactose, un représentant du groupe des β -glucosides.

L'ensemble des faits connus concernant la spécificité des diastases laisse supposer plutôt que les 4 substances en question sont attaquables, sinon par autant d'espèces de diastases, du moins par plusieurs diastases. La constitution du lactose et celle de l'amygdaline sont certainement très différentes de la constitution de l'isomaltose et de celle du cellose. Quant au gentiobiose, dépourvu de pouvoir réducteur, il doit se rapprocher plutôt du tréhalose. Il n'est donc pas illogique de supposer, d'après ces vues théoriques, que la diastase du cellose, et peut-être aussi de l'isomaltose, est différente de l'émulsine et de la tréhalase. Mais il faut des arguments expérimentaux pour appuyer cette manière de voir.

Déjà dans le mémoire cité de E. Fischer et G. Zemplén, on trouve une expérience montrant que la macération aqueuse de kéfir dédouble le lactose et non le cellose. D'où il résulte que si l'émulsine est vraiment active sur le cellose, elle est différente de la lactase; que si, au contraire, elle est identique à la lactase, elle est différente de la cellase.

Pour savoir si la diastase du cellose, distincte de la lactase, comme on l'a vu par l'expérience de E. Fischer et G. Zemplén, l'était aussi de l'émulsine, nous avons entrepris l'expérience suivante, basée sur la filtrabilité différente des diastases et sur l'influence, mentionnée plus haut, qu'exerce la réaction du milieu sur cette filtrabilité.

De la macération d'*Aspergillus niger* fut divisée en trois portions : la première fut additionnée de soude jusqu'à légère alcalinité à la phtaléine; la seconde fut laissée à l'état naturel; la troisième, enfin, reçut de l'acide chlorydrique jusqu'à presque neutralisation à l'hélianthine. Les 3 portions furent alors filtrées à la bougie : on rejeta le premier tiers de chaque liquide, destiné au lavage et à la saturation des bougies, puis, sur le reste, on préleva aseptiquement 50 c. c.

Le liquide alcalinisé reçut juste assez d'acide chlorhydrique titré et stérilisé pour rétablir la réaction naturelle. Celui qui avait été, au contraire, additionné d'acide chlorhydrique, reçut de la soude, aussi titrée et stérilisée. Quant au liquide de la se-

conde portion, il fut mélangé à la fois d'acide et d'alcali de manière à rendre son volume égal à celui des 2 précédents, sans toutefois en changer la réaction.

Ceci étant préparé, on fit agir séparément les 3 solutions sur des quantités équimoléculaires de cellose, d'amygdaline et de maltose placées dans des tubes bouchés avec de l'ouate et préalablement stérilisés à $+ 115^{\circ}$ durant $1/4$ d'heure. On s'était assuré, par une série d'expériences préliminaires, qu'une telle stérilisation ne transformait pas l'amygdaline (le pouvoir rotatoire reste absolument le même); qu'elle n'hydrolysait pas, nous l'avons déjà mentionné, ni le cellose ni le maltose.

Les quantités mises en expériences ont été : avec le cellose et le maltose, de 0 gr. 050 de sucre dans 4 c. c. des liquides diastasiques; avec l'amygdaline, de 0 gr. 373 dans 20 c.c. de ces mêmes liquides.

Les tubes qui contenaient les mélanges sucrés ont été mis au thermostat, simplement bouchés avec leur tampon d'ouate; mais ceux qui renfermaient le glucoside ont été, au contraire, scellés à la lampe, pour éviter les pertes ultérieures d'acide cyanhydrique. A l'analyse, on a obtenu les résultats que voici :

1° Pour le cellose (après 40 heures à $+ 37^{\circ}$) :

	Cuivre réduit.	Sucre dédoublé.
Avec la macération filtrée alcaline.....	95 mgr.	78,5 0/0 env.
— — — à l'état naturel.....	96 mgr.	82,0 —
— — — après addition d'HCl.	77 mgr.	21,5 —

2° Pour l'amygdaline (après 40 heures à $+ 37^{\circ}$) :

	Acide cyanhydrique	Glucoside dédoublé.
Avec la macération filtrée alcaline.....	0,013	66 0/0
— — — à l'état naturel.....	0,0165	84 —
— — — après addition d'HCl.	0,0076	38,5 —

3° Pour le maltose (après 1 heure à $+ 56^{\circ}$) :

	Cuivre réduit.	Sucre dédoublé.
Avec la macération filtrée alcaline.....	55,5	9 0/0 env.
— — — à l'état naturel.....	56,0	10 —
— — — après addition d'HCl.	53,0	4 —
— — — à l'état naturel, mais bouillie.....	51,0	0 —

Il est facile de voir, en comparant ces résultats, que la cellase, l'émulsine et la maltase ont filtré d'une manière différente et,

de plus, qu'elles ont été influencées inégalement par la réaction du milieu. Tandis, par exemple, que la neutralisation presque complète de la macération d'*Aspergillus niger* à l'hélianthine a réduit à peu près au 1/4 le passage de la cellase à travers la bougie de porcelaine, elle a réduit seulement à la moitié environ le passage de l'émulsine et de la maltase. L'action légèrement destructrice de la soude s'est fait sentir, d'autre part, beaucoup plus sur l'émulsine que sur la cellase et surtout sur la maltase.

Ce sont là autant de différences qui tendent à faire considérer la cellase comme distincte aussi bien de l'émulsine qu'elle l'est, certainement, de la maltase.

Nous avons réussi, enfin, à différencier la nouvelle diastase de celle qui attaque le tréhalose en nous servant de la préparation diastasique extraite des amandes d'abricots. Tandis que cette préparation hydrolyse nettement le cellose, ainsi qu'on l'a vu plus haut, elle est tout à fait inactive vis-à-vis du tréhalose.

En résumé, il existe une diastase spécifique du cellose. Cette diastase, que nous proposons d'appeler *cellase*, se trouve plus ou moins mélangée avec d'autres espèces diastasiques, dans des organes appartenant à des végétaux divers : amandes de l'abricotier et de l'amandier, graines de l'orge, mycélium de l'*Aspergillus niger*, etc. (1). Nous n'en avons pas trouvé dans le sérum de cheval, du moins en proportion appréciable, ni dans la levure haute, ni, enfin, dans la macération glycérinée de *Russula queletii*.

(1) Des expériences récentes de H. Pringsheim et G. Zemplén, sur l'action hydrolysante du suc. extrait à la presse, de 13 espèces de moisissures, vis-à-vis de plusieurs sucres, parmi lesquels du cellose, conduisent à faire admettre la présence de la cellase dans 4 de ces espèces. (*Zeits. physiol. Chem.*, t. LXII, p. 367, 15 oct. 1909.)

Action de quelques microbes sur la tuberculine

Contribution à l'étude de la nature de la Tuberculine

PAR LE D^r VAUDREMER.

Sur le conseil de M. le docteur Louis Martin nous avons étudié l'action de quelques microbes sur la tuberculine. Il s'agissait de voir si, en poussant dans des milieux tuberculinés à des taux de concentration différents et parfaitement définis, ces microbes étaient capables de modifier d'une façon quelconque les propriétés biologiques de la tuberculine.

Quand, nos expériences étant terminées, nous avons exposé à M. le docteur Roux les résultats de notre travail, nous avons appris de lui que notre regretté confrère Debrand avait fait quelques essais sur le même sujet et que le docteur Borrel avait étudié l'action d'une moisissure poussée par hasard sur la tuberculine brute. A notre connaissance, ces recherches n'ont jamais fait l'objet d'une communication, nous tenons cependant à les signaler.

Tout d'abord, nous avons pensé à employer la tuberculine précipitée; celle que nous eûmes à notre disposition contenait encore de la glycérine en proportion indéterminée; les pesées, étaient, dans ces conditions, difficiles à faire et les résultats obtenus devenaient moins précis; la tuberculine brute, plus maniable, fut dès lors préférée; c'est d'elle seule qu'il sera parlé au cours de ce compte rendu.

Nous employâmes la tuberculine brute de l'Institut Pasteur que voulut bien nous remettre le docteur Charpentier; cette tuberculine injectée sous la peau d'un animal devenu tuberculeux depuis cinq semaines, à la suite d'une inoculation sous-cutanée, produit une réaction thermique à la dose d'un cinquantième de c. c. et amène la mort à la dose d'un quart de c. c., en six heures environ. Nous appellerons donc la dose d'un cinquantième de c. c. :

Dose réactionnelle ou D. R., et Dose mortelle ou D. M. celle d'un quart de c. c. Les bacilles employés à la tuberculisation des animaux furent prélevés sur une culture de bacilles bovins provenant d'Alfort et âgée de trois semaines.

Les cobayes choisis comme animaux d'épreuve furent tuberculisés en deux séries : la première série fût inoculée dans le péritoine; la seconde le fût sous la peau. Il est évident qu'à un certain point de vue l'injection intrapéritonéale eût été préférable; elle ne détermine pas, en effet, les larges ulcérations cutanées que produit toujours l'injection de bacilles tuberculeux sous la peau, et l'on s'expose moins, avec elle, à contaminer les cages et le personnel; seulement, en raison de l'action inconstante de la tuberculine chez les animaux tuberculisés par la voie intrapéritonéale, action inconstante sur laquelle on a peu insisté et que nous avons eu l'occasion de vérifier de la façon la plus évidente au cours de nos recherches (1), nous fûmes obligés d'avoir recours aux animaux tuberculisés sous la peau.

Les microbes dont nous avons étudié l'action sur la tuberculine, sont des bactéries et des moisissures, qui agissent de façon différente sur les substances nutritives. Nous avons choisi des microbes doués d'un pouvoir protéolytique très accentué et d'autres inactifs vis-à-vis de la molécule albuminoïde intégrale ou de la gélatine, mais attaquant par contre les peptones.

Ces microbes furent le *B. Megatherium*, le *B. coli*, le *B. typhique*, le le *B. enteritidis*. *Gartneri*, le *B. pyocyannique*, l'*Aspergillus fumigatus*, l'*Aspergillus niger*, le *Penicillium glaucum*.

Les bactéries furentensemencées sur bouillon de panse; les moisissures, sur le liquide de Raulin auquel nous ajoutions deux

(1) En recherchant l'action des D. R. et D. M. sur des cobayes tuberculisés depuis cinq semaines par la voie intra-péritonéale nous avons obtenu les résultats que nous reproduisons ici :

D. R. Dans le péritoine. N° 1 Réaction : 0° 5.
2 — : 0° 5.
3 — : 1°.

D. R. Sous la peau. N° 1 Réaction : 1° 2.
2 — : 1° 4.
3 — : 1°.

D. M. Dans le péritoine. N° 1 Réaction : 1°.
2 — : 1° 1.
3 — : 0° 5. } Les cobayes ne meurent pas.

Témoin. — D. M. Sous la peau. Mort en 18 heures.

Tous les cobayes ayant servi furent sacrifiés après l'expérience et tous présentèrent des lésions de tuberculose positive. Ces constatations appellent de nouvelles recherches qui seront reprises ultérieurement.

pour cent de carbonate de chaux dans le but de neutraliser l'acidité produite par le développement de la culture, ce qui aurait pu fausser les résultats de l'expérience.

Nous commençâmes par ensemercer les milieux avec les bacilles à étudier puis après 24 ou 48 heures, nous ajoutions la tuberculine, dans des proportions variant entre 1 et 4 0/0. Un flacon restait toujours comme témoin. L'addition de tuberculine ne changeait pas l'aspect de la culture, les germes continuant à vivre et à se développer; nous avons vu d'ailleurs que l'*Aspergillus niger*, quoique lentement, continue à vivre et à se développer même, sur la tuberculine brute diluée avec un volume égal de liquide Raulin. Il devenait dès lors plus simple de faire la dilution avant l'ensemencement; c'est à ce procédé que nous nous sommes arrêté.

Nous obtinmes ainsi 5 cultures par échantillon, 1 culture sans tuberculine, et 4 cultures avec tuberculine variant comme concentration de 1 à 4 0/0. Les bactéries furent cultivées à l'étuve à 37°, les moisissures à la température du laboratoire; les dilutions de 1 et 2 0/0 furent laissées 3 jours à l'étuve; les dilutions à 3 0/0, 8 jours; 15 jours, celles à 4 0/0; les moisissures, en raison de la lenteur de leur développement, restèrent en culture de 8 à 21 jours selon la concentration de la dilution. Après ce laps de temps, la filtration fut opérée sur bougie Chamberland, au moyen du filtre Martin.

La réaction des liquides filtrés fut reconnue neutre ou faiblement alcaline au tournesol, sauf pour le filtrat typhique. Les cultures de ce microbe, neutre pendant les 48 premières heures à l'étuve, donnent au bout de dix jours une réaction faiblement acide. Le *B. enteritidis*, très acide au début de la culture, passe au neutre à la fin de la 2^e semaine.

* * *

Nos expériences ont porté sur 100 cobayes tuberculisés sous la peau; 5 semaines après l'infection 2 cobayes du lot pris au hasard, reçurent la dose mortelle de tuberculine, soit 1/4 de c. c. en injection sous-cutanée; 2 autres cobayes du même lot, reçurent la dose réactionnelle, soit un cinquantième de c. c.

L'expérience fut faite avec un prélèvement opéré sur la quantité restant de la tuberculine ayant servi aux dilutions; les animaux ayant reçu la dose mortelle moururent de 6 à 8 heures.

après l'injection; les animaux ayant reçu la dose réactionnelle réagirent de 1^o et 1^o 2/10, 7 et 8 heures après l'opération.

Les cobayes étaient donc suffisamment sensibilisés pour nous permettre de procéder aux essais.

Ceux-ci comprennent 8 séries; 1 série par microbe; chacune d'elle comporte :

Un cobaye témoin qui reçoit le liquide filtré d'une culture à laquelle on n'avait pas ajouté de tuberculine;

Un cobaye auquel est injecté la dose réactionnelle à 2 0/0

Un cobaye..... 3 0/0

Un cobaye..... 4 0/0

Un cobaye..... Dose mortelle à x 0/0

soit 5 cobayes par série. La dilution à 2 0/0 est restée 3 jours à l'étuve; la dilution à 3 0/0, 8 jours; la dilution à 4 0/0 15 jours.

Le milieu de culture et les différentes dilutions sont éprouvés au tournesol avant l'injection; la température des animaux est prise avant l'opération, puis ensuite toutes les 2 heures pendant les 20 heures qui suivent; la réaction apparaît habituellement entre la 2^e et la 6^e heures.

En quelques lignes voici le résultat de nos expériences :

1^o. — MOISSURES :

Aspergillus fumigatus. — L'injection du milieu de culture sans tuberculine produit une élévation de température de 9 /10 de degré; la dose mortelle ne tue pas l'animal; la température maxima produite par l'injection de la dose réactionnelle ne dépasse pas 6 /10 de degré.

Aspergillus niger. — Le milieu de culture sans tuberculine ne produit pas de réaction même à dose massive. La dose mortelle ne tue pas l'animal et la réaction thermique ne dépasse pas 7 /10 de degré. La réaction produite par la dose réactionnelle va en décroissant parallèlement à la prolongation de séjour à l'étuve. La réaction tuberculinique disparaît après 15 jours d'étuve.

Penicillium glaucum. — Le milieu de culture sans tuberculine produit une réaction légère de 6 /10 de degré. La dose mortelle donne une réaction de 1^o 3/10, mais l'animal ne meurt pas. La réaction thermique de la D. R. atteint 7 /10 de degrés et disparaît avec la prolongation de séjour à l'étuve. Après 15 jours

d'étuve on constate que l'injection de la D. R. produit chez l'animal un léger abaissement de température.

II. — BACILLES :

B. Enteritis Gartneri. — Le milieu de culture sans tuberculine ne produit pas de réaction. La D. M. tue l'animal en 20 heures, la D. R. produit une réaction d'autant plus forte que la dilution employée est plus concentrée, la prolongation du séjour à l'étuve est sans effet.

Bacterium coli. — Le milieu de culture sans tuberculine semble produire un effet hypothermisant. La D. M. tue l'animal en 6 heures, la D. R. produit une réaction violente quelle que soit la dilution employée.

Typhique. — Le milieu de culture sans tuberculine élève la température de $1^{\circ}1/10$, la D. M. tue en 39 heures, la D. R. produit une réaction quelle que soit la dilution employée.

Pyocyanique. — Le milieu de culture sans tuberculine élève la température de $6/10$ de degré, la D. M. ne tue pas et produit une réaction de $1^{\circ}6/10$, la D. R. réagit quelle que soit la dilution employée. Pourtant la réaction produite par la D. R. dans la dilution à 4 0/0 atteint seulement $4/10$ de degré après 15 jours d'étuve.

Megatherium. — Le milieu de culture sans tuberculine élève la température d'un degré six dixièmes, la D. M. tue en 6 heures, la D. R. produit une forte réaction quelle que soit la dilution employée.

*
* *

Nous avons fait des essais avec tous les microbes que nous venons d'étudier.

Pour bien montrer comment nous avons opéré, nous allons donner les détails des expériences faites avec l'*Aspergillus fumigatus*, microbe qui attaque la tuberculine, et avec le *Megatherium*, qui n'a pas d'action sur ce produit.

Les deux tableaux suivants contiennent les résultats de ces expériences :

PREMIER TABLEAU.

I. — *Aspergillus fumigatus* (alcalin au tournesol).

COBAYES : N° 17. P. 600.		N° 11. P. 530.	N° 43. P. 420.	N° 82. P. 430.	N° 93. P. 330.
Volume du milieu de culture injecté pour la D.M. 12 c.c.		D. M. à 2 0/0	D. R. à 2 0/0	D. R. à 3 0/0	D. R. à 4 0/0
Température avant l'injection.	39.6	38.6	39.8	39.2	39.5
Température après l'injection.					
2	39.6	38.6	39.6	39.2	39.5
4	39.4	40.	40.4	39.7	39.5
6	40.3	40.1	39.9	39.8	39.6
8	40.	39.8	39.9	39.	39.5
10	39.8	40.2	39.8	38.7	39.4
12	39.7	40.	39.6	38.7	39.6
18	39.7	40.1	39.4	39.	40.
20	39.6	39.7	39.4	39.6	39.5
22	39.7	39.5	39.2	39.4	40.

2^e TABLEAU.I. — *Megatherium* (alcalin au tournesol).

COBAYES : N° 6. P. 350.		N° 5. P. 310.	N° 12. P. 350.	N° 1. P. 470.	N° 2. P. 390.
Volume milieu culture simple injecté pour D. M. 6 c. c.		D. M. à 4 0/0	D. R. à 2 0/0	D. R. à 3 0/0	D. R. à 4 0/0
Température avant l'injection.	39.	39.8	39.6	40.2	39.7
Température après l'injection.					
2	39.2	39.	40.	39.8	40.8
4	39.6	39.	39.8	39.9	40.5
6	40.6	39.5	40.1	39.3	39.7
8	40.2	mort.	40.5	39.3	39.8
10	40.6		40.4	40.	39.3
12	40.3		40.2	40.2	39.3
18	40.2		40.2	40.1	39.
20	40.5		40.3	40.	40.
22	40.5		40.3	40.	39.9

Conclusions

En employant des dilutions de 2 à 4 0/0 de tuberculine brute, l'action sur la Dose mortelle est :

nulle, pour l'*Enteritidis*,

D. M. tue en 20 heures 1 cobaye de 460 grammes.
nulle pour le *Megatherium*,

D. M. tue en 8 heures 1 cobaye de 310 grammes.
nulle pour le Coli,

D. M. tue en 10 heures un cobaye de 440 grammes.
faible pour le typhique,

D. M. tue en 39 heures 1 cobaye de 640 grammes.
complète pour le *Pyocyanique*, l'*Aspergillus niger*, l'*Aspergillus fumigatus*, le *Penicillium Glaucum*.

L'action sur la Dose réactionnelle, lorsqu'elle est positive, paraît l'être d'autant plus que le séjour à l'étuve a été plus prolongé. Les dilutions à 2 0/0 restées 3 jours à l'étuve donnent des réactions qu'on ne constate plus avec des dilutions à 4 0/0 restées au contact 15 jours.

De l'ensemble de nos expériences nous pouvons conclure que l'action des moisissures est considérable sur la tuberculine. Celle-ci paraît être fortement attaquée par elles et surtout par le *Penicillium glaucum*. Dans ce dernier cas, la réaction thermique peut être inversée. Ce point devra être repris pour savoir si le *Penicillium* dans son action laisse indemne la substance hypothermisante du bacille tuberculeux.

Dans la classe des bactéries le *Pyocyanique*, germe doué d'un fort pouvoir protéolytique, est le seul dont l'action sur la tuberculine se manifeste d'une façon aussi intense que pour les moisissures; l'action des autres bactéries est pour ainsi dire insignifiante.

Il ressort enfin, d'une façon générale, que ce sont surtout, sinon exclusivement, les microbes protéolytiques qui détruisent le pouvoir toxique de la tuberculine, tandis que les germes qui ne s'attaquent qu'à la peptone la laissent, pour ainsi dire, intacte; ceci pourrait faire penser que, selon toute probabilité, la tuberculine n'est autre chose qu'une toxalbumine existant comme un des éléments constituant le protoplasma bactérien du bacille de la tuberculose.

Recherches sur l'influence paralysante exercée par certains acides sur la fermentation alcoolique

PAR M. M. ROSENBLATT ET M^{lle} M. ROZENBAND

(Laboratoire de M. Gabriel Bertrand.)

De nombreux auteurs ont étudié l'action exercée par certains acides sur la fermentation alcoolique, mais leurs résultats ne concordent pas les uns avec les autres, ce qu'on peut attribuer ou à leur mode opératoire, ou au mode d'appréciation de l'activité des acides étudiés.

Dumas (1) dans ses recherches a employé la méthode suivantes : il introduisait les acides dans 25 grammes d'eau pure, plus 10 grammes de sucre additionné de 5 grammes de levure et mesurait leur action, sur le début et sur la durée de la fermentation, en dosant le sucre restant. Les quantités d'acides employés étaient calculées, par cet auteur, en proportion à l'acidité propre de la levure, et il trouvait qu'il était nécessaire d'introduire 100 fois l'équivalent de cette acidité de la levure en acide sulfurique, azotique, phosphorique, arsénieux et borique et 200 fois en acide tartrique et chlorhydrique pour que la fermentation ne se manifeste pas.

Lafar (2) opérait sur les moûts de vin additionnés des acides tartrique, malique, citrique, lactique, succinique, acétique et oxalique, qu'il ensemait avec des levures pures et examinait les rendements en levure, glycérine et alcool. L'action de ces acides était différente et dépendait de la race de levure employée.

(1) DUMAS. *C. R.*, t. LXXV, p. 277, 1872; *Ann. de chim. et phys.*, 5^e série, t. III, p. 57, 1874.

(2) LAFAR, *LANDWIRTSCH. JAHRESBER.*, 1894.

Kayser (1) a fait des expériences comparatives avec les acides tartrique, citrique et malique en prenant chacun en quantité correspondante à un équivalent, un demi, et un quart d'équivalent d'acide par litre. Il introduisait ces acides dans de l'eau de touraillon, contenant 162 gr. 3 de saccharose par litre et ensémençait avec de différentes races de levure. Après la fin de la fermentation principale (l'auteur n'indique pas sa durée), Kayser dose le sucre restant, l'acidité volatile ainsi que le poids de levure formée. Il a observé qu'il reste, en général, plus de sucre non fermenté dans les moûts additionnés d'un équivalent d'acide par litre que dans des liquides contenant le même acide à une plus faible concentration. L'acide tartrique était le moins favorable à la fermentation : il y avait moins de sucre fermenté avec cet acide qu'avec l'acide citrique et moins avec ce dernier qu'avec l'acide malique.

Il en était de même pour la quantité de levure formée qui était plus grande dans les liquides contenant de l'acide malique, que dans ceux contenant les acides citrique et tartrique.

L'action des acides étudiés par Kayser variait aussi avec la race des levures employées; une espèce de levure faisait fermenter plus de sucre qu'une autre en présence de la même quantité d'un acide.

Will (2), en étudiant les acides benzoïque, salicylique, oxalique et borique, agissait de la manière suivante : il mettait la levure en contact avec l'acide, puis, après un temps variable, plongeait la levure, ainsi traitée, dans de l'eau pure. Après l'avoir essorée il observait le temps au bout duquel la levure perdait son pouvoir fermentatif. Il faut noter, à propos de cette méthode, que le séjour de la levure dans l'eau, après le bain acide, affaiblit cette levure, ce qui doit produire une cause d'erreur inévitable.

Biernacki (3) d'une part et Bokorny (4) d'autre part ont employé dans leurs expériences un procédé de dosage gazométrique.

Ces auteurs mettaient la levure en contact avec un mélange d'une solution de sucre et d'acide dans un tube gradué. Un autre tube sans acide servait de témoin. Le volume de l'acide car-

(1) KAYSER, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, p. 51, 1896.

(2) WILL, *Zeitschr. f. d. ges. Brauereis* 16, 1893.

(3) BIERNACKI, *Pflügers Archiv.*, p. 112, 1891.

(4) BOKORNY, *Allgem. Brauer und Hopf. Z.*, 1896.

bonique dégagé indiquait la marche de la fermentation et la puissance de l'acide étudié.

Les résultats obtenus d'après cette méthode manquent forcément de précision. Il était impossible de noter le temps de début de la fermentation, car l'acide carbonique produit saturait le liquide contenu dans le tube et ce n'est que l'excès qui se dégageait. Les quantités de sucre employées par les auteurs pouvaient fournir, par la fermentation, un volume de CO_2 qui dépassait à peine la quantité suffisante pour saturer le liquide contenu dans le tube gradué, de sorte qu'il était difficile de faire des mesures précises et même de constater la fermentation si on n'apercevait pas de dégagement des bulles de gaz dans le liquide.

Biernacki et Bokorny ont déterminé les doses des acides borique, salicylique, benzoïque et sulfurique qui supprimaient tout dégagement d'acide carbonique. Ces quantités égalaient 40 grammes par litre pour l'acide borique, 0 gr. 5 pour l'acide benzoïque et 1 gramme pour l'acide salicylique. Quant à l'acide sulfurique, il y a désaccord entre les résultats de ces deux auteurs. D'après Biernacki, la concentration limite était de 10 grammes par litre, par contre Bokorny indique 200 mgr. de H_2SO_4 par litre comme déjà suffisants pour paralyser la fermentation.

Schulz (1) a signalé que les acides arsénieux, formique et salicylique employés en faibles concentrations produisent une action favorable sur la fermentation.

Nous avons observé que l'action des acides sur la fermentation n'est ni absolument générale, ni rigoureusement progressive. Quand on opère avec des doses croissantes d'un même acide actif, on observe que, jusqu'à une certaine concentration, il n'y a aucun arrêt de la fermentation; c'est seulement à partir de cette dose que l'action paralysante de l'acide se fait sentir; elle augmente, comme on pouvait le prévoir, jusqu'à la concentration à laquelle il n'y a plus du tout de fermentation alcoolique.

Nous avons repris l'étude de la question avec la levure de bière haute, afin d'établir : 1° la concentration limite des acides,

(1) SCHULZ, *Pflugers Archiv*, 42, 517, 1888. *Virchows Arch.*, 108, 427, 1887. Des récentes recherches de E. Buchner, H. Buchner, M. Hahu (*Die zymaseführung*, Munich et Berlin, 1903), de Duchachek (*Biochem. zeitschr.*, p. 211, 1909) ont eu pour objet l'action des acides acétique, lactique, tartrique, benzoïque et salicylique sur la zymase. Nous les citons à cause du rapport qu'ils peuvent présenter avec notre travail, mais nous n'avons pas à les analyser ici.

qui reste sans effet sur la fermentation et 2° la concentration des mêmes acides qui paralyse complètement l'action fermentative de la levure.

Au cours de cette étude nous avons examiné avec soin l'action comparée d'un assez grand nombre d'acides minéraux et organiques. Nos expériences ont démontré que plusieurs acides, parmi lesquels l'acide borique, sont sans aucune action sur la fermentation alcoolique; pour les autres, la concentration qui arrête complètement l'action de la levure est, en général, très élevée, beaucoup plus, en tout cas, qu'on pouvait le supposer d'après les expériences antérieurement publiées.

Afin d'éviter les causes d'erreur que l'on pourrait reprocher à certaines recherches auxquelles il est fait allusion plus haut, nos expériences ont été effectuées d'après le mode opératoire suivant : une série de tubes à essais contenant chacun 125 mgr. de saccharose dissous dans 10 c.c. d'une solution acide (1) de différentes concentrations moléculaires et additionnés de 100 mgr. de levure de bière haute (levure pressée du commerce, apportée journellement,) ont été placés dans un bain réglé à la température de 28°, 5 pendant 40 heures. Chaque série d'expériences a été accompagnée de tubes témoins contenant la même quantité de saccharose dissous dans 10 c. c. d'eau pure.

Après le délai de 40 heures, nous avons mesuré l'action paralysante des acides par la quantité de saccharose disparu. Pour cela le sucre restant était interverti (2), puis dosé par la méthode très précise indiquée par Gabriel Bertrand (3). Pour l'inversion du sucre, nous ajoutions dans chaque tube de l'acide chlorhydrique pur en quantité nécessaire pour faire une solution de HCl à 20/0 et nous chauffions à 100° pendant 15-20 minutes.

Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau ci-après.

(1) L'eau employée pour nos expériences était de l'eau redistillée dans le vide avec un appareil en verre.

(2) 0,1 gramme de sucre chauffé à 100° avec 10 c. c. des solutions acides, ne donne naissance à aucun corps réducteur.

(3) *Bull. Soc. Chimique*, 3^e série, t. XXXV, 1906, p. 1285.

Noms des acides	Poids moléculaires	Concentration limite en molécule-gramme par litre paralysant complètement la fermentation	Concentration sans effet sur la fermentation
<i>Acides monobasiques</i>			
Acide dichloracétique...	429	m/100 ou 0,429 grammes par litre	m/2000
— benzoïque.....	122	m/60 ou 2,033 grammes par litre	m/1000
— salicylique.....	138	m/60 ou 2,300 grammes par litre	m/2000
— monochloracétique	94,5	m/50 ou 1,890 grammes par litre	m/5000
— trichloracétique...	463,5	m/25 ou 6,540 grammes par litre	m/4000
— azotique.....	63,9	m/9 ou 7,010 grammes par litre	m/3000
— isovalérique.....	102,9	m/5 ou 20,4 grammes par litre	m/200
— chlorhydrique....	36,5	m/5 ou 7,3 grammes par litre	m/3000
— formique.....	46	m/4 ou 11,5 grammes par litre	m/1000
— benzène sulfonique	185	m/3 ou 61,667 grammes par litre	m/3000
— acétique.....	60	m 2 ou 30 grammes par litre	m/100
— sulfovinique.....	126	2 M ou 252 grammes par litre	m/4000
— lactique.....	90	2 M ou 180 grammes par litre	m/200
— isobutyrique.....	88	3 M ou 264 grammes par litre	m/100
— propionique.....	74	4 M ou 296 grammes par litre	m/200
— butyrique normal.	88	5 M ou 440 grammes par litre	m/200
— paraoxybenzoïque.	138	Fermentation encore appréciable avec la solution saturée m. 20..	m/60
<i>Acides bibasiques</i>			
Acide sulfurique (1)....	98	m/10 ou 9 gr. 8 par litre.	m/8000
— oxalique (2).....	90	m/10 ou 9 gr. 0 par litre.	m/4000
— malonique.....	104	5,6 M ou 582 gr. 4 par litre.	m/200
— tartrique.....	150	Fermentation encore appréciable avec la solution saturée 5 M.	m/200
— succinique.....	118	Fermentation encore appréciable avec la solution saturée m/2,5	m/8

(1) Dans une nouvelle série d'expériences, faites quelques mois (7) après, nous avons trouvé que l'acide sulfurique n'arrêtait complètement la fermentation qu'à la dose de m/5 ou 19 gr. 6 par litre. Pour les autres acides, les concentrations limites sont restées les mêmes. La cause de ce changement de résistance de la levure envers l'acide sulfurique doit être sûrement attribuée au fait que cette levure était (comme nous l'avons appris ensuite) préparée dans les derniers mois avec des moûts contenant de l'acide sulfurique. La levure s'accoutume à cet acide et devient plus résistante à son égard. A cause de ce phénomène d'accoutumance, il fallait employer l'acide sulfurique à une dose plus grande pour produire le même effet d'arrêt complet de la fermentation. Avec les acides nitrique, acétique et phosphorique que nous avons essayés, cette nouvelle race de levure ne présente pas de différence avec la première.

(2) Calculé sans eau de cristallisation.

Noms des acides.	Poids moléculaires	Concentration limite en molécule-gramme par litre paralysant complètement la fermentation.	Concentration sans effet sur la fermentation
<i>Acides tribasiques.</i>			
Acide arsénique.....	112	2 M ou 285 gr. par litre.	m/500
— phosphorique....	98	3 M ou 294 gr. par litre.	m/2000
— citrique (1).....	192	3 M ou 576 gr. par litre.	m/200
— méthylarsénique..	140	3 M ou 420 gr. par litre	m/1000
— borique.....	62	Fermentation presque complète avec la solution saturée m/2.	m/4
— arsénieux.....	198	Fermentation appréciable avec la solution saturée m/10.	m/2000

Nous avons essayé aussi l'action de quelques sels acides.

Noms des sels.	Poids moléculaires	Concentration limite en molécule-gramme par litre paralysant complètement la fermentation.	Concentration sans effet sur la fermentation
Sulfate monopotassique..	136	m/3 ou 45 gr. 33 par litre.	m/500
Citrate monosadique....	214	3 M ou 642 gr. 0 par litre.	m/1
Phosphate — (1)	120	4 M ou 480 gr. 0 par litre.	m/1
— monopotassique	136	Fermentation complète avec la solution saturée m/1	—
Oxalate —	128	Fermentation encore appréciable avec la solution saturée m/3	m/30
Arséniate —	180	Fermentation encore appréciable avec la solution saturée m/1	m/4

Dans le tableau ci-dessus les acides sont rangés d'après leur basicité et dans l'ordre décroissant d'activité. Cet ordre de classement montre quelques faits assez curieux. Ainsi, les acides les plus actifs de la série grasse sont les acides di-mono et trichloracétique. Pour arrêter complètement la fermentation, il fallait employer une dose deux fois plus faible d'acide dichloracétique que d'acide mono et quatre fois plus faible que d'acide trichloracétique.

L'ordre de groupement des acides gras saturés est aussi irrégulier.

(1) Calculé sans eau de cristallisation.

gulier qu'inattendu : le plus actif est l'acide isovalérique, puis suivent les acides formique, acétique, isobutyrique, propionique et n-butyrique.

Quant aux acides aromatiques-benzoïque et salicylique, nous avons constaté que l'introduction de l'oxydride phénolique dans le noyau ne change pas l'activité de l'acide dans le cas d'arrêt complet de la fermentation.

Par contre, si on diminue progressivement la concentration de ces deux acides, on voit que l'acide salicylique devient plus actif que l'acide benzoïque : par exemple, à la concentration de $m/300$ il y a 10 fois plus de sucre fermenté avec l'acide benzoïque qu'avec l'acide salicylique. Quant à l'isomère de l'acide salicylique, l'acide para-oxybenzoïque, il n'arrête pas la fermentation, même en solution saturée de $m/20$ et devient inactif à la dose de $m/60$ par litre. Le dérivé para est donc beaucoup moins actif que le dérivé ortho.

Dans la série des acides bibasiques, les acides sulfurique et oxalique sont les plus actifs ; les autres acides étudiés, de la même série et de la série tribasique, ont relativement une faible action sur la fermentation du saccharose.

Il faut encore remarquer que dans les cas des acides arsénique, arsénieux et méthylarsénique, le métalloïde, malgré sa grande toxicité habituelle, semble ne pas avoir d'effet particulier sur l'action de la levure. Ces acides se rangent à côté des autres acides de la même série, par exemple, de l'acide phosphorique et citrique.

Afin de vérifier que la disparition du sucre était bien due à la fermentation alcoolique, nous avons dosé aussi l'alcool formé par la méthode colorimétrique du bichromate, suivant la technique en usage dans le laboratoire de M. Gabriel Bertrand. Cette technique consiste à préparer d'abord une série des tubes devant servir de type. On mélange dans le premier tube 1 c. c. d'une solution de bichromate de potassium à 2 0/0 avec 5 c. c. d'une solution alcoolique à 1 0/00 en volume et 5 c. c. de H^2SO^4 concentré ; dans le deuxième tube on fait le même mélange avec 4 c. c. 5 de la même solution alcoolique + 0, 5 c. c. d'eau et ainsi de suite. On fait bouillir chaque tube pendant une minute et on laisse refroidir. On obtient alors des colorations correspon-

dant à des quantités d'alcool absolu de 5 mm. c. jusqu'à zéro (de vert pur à orange de bichromate).

De la même manière on opère avec une solution d'alcool à doser et on compare les colorations obtenues avec l'échelle type.

Cette technique de dosage de petites quantités d'alcool qui diffère de celle, bien connue, de Nicloux, a l'avantage d'être beaucoup plus rapide, lorsqu'on a, comme dans notre cas, un grand nombre de dosages à faire; elle ne demande guère, en effet, qu'une seule expérience par dosage, puisque la série des types peut se conserver pendant fort longtemps.

Elle présente aussi l'avantage de pouvoir être effectuée avec une plus petite quantité des substances à doser.

Comme exemple citons le dosage effectué avec l'alcool provenant de la fermentation de sucre dans un milieu saturé d'acide arsénieux (m/10).

Nous avons dissous 6 gr. 25 de saccharose dans 500 c. c. d'une solution d'acide arsénieux m/10 et additionné de 5 grammes de levure (c'est-à-dire avec les quantités 50 fois plus grandes, que dans les expériences ordinaires : ceci afin d'obtenir un volume d'alcool suffisant pour l'identifier et doser). Après 40 heures nous avons distillé au réfrigérant de Schloësing 350 c. c. de liquide, lequel fut redistillé en 2 portions : la première de 200 c. c. a donné, après le dosage, 794 mgr. d'alcool; la seconde de 50 cm³ en était exempte. Ces 794 mgr. contiennent aussi 99 mgr. d'alcool, provenant de 5 grammes de levure employée pour l'expérience (1) et qu'il faut déduire. Il reste ainsi 695 mgr. d'alcool formé par la fermentation de 1 gr. 36 de saccharose (21,7 0/0 de sucre total employé).

Nous avons obtenu des résultats analogues en effectuant l'expérience avec H²SO⁴ m/14 (avec m/10 il y a arrêt complet de fermentation; nous n'avons constaté ni la disparition du sucre ni la formation d'alcool).

Il est très curieux de constater que la fermentation du sucre par la levure de bière ne soit pas complètement annihilée dans un milieu contenant des doses aussi fortes d'acide, que, par exemple, près de 10 grammes par litre dans le cas de l'acide sulfurique; 352 grammes dans celui de l'acide butyrique normal ou

(1) Quantité qui a été dosée sur un échantillon à part, au moment même où on procède à l'ensemencement du liquide fermentescible.

222 grammes pour l'acide propionique, surtout si l'on se rappelle qu'il suffit souvent de quantités très faibles de ces réactifs pour paralyser complètement l'action des diastases.

M. Gabriel Bertrand (1), par exemple, a démontré que l'acide sulfurique arrête complètement l'action oxydasique de la laccase à la dilution d'une demi-molécule-gramme d'acide dans 60,000 litres d'eau (la laccase prise à 1/200000^e) et que pour la plupart des autres acides les doses paralysantes sont aussi très minimales. D'autre part, des faits analogues ont été signalés par M. Gabriel Bertrand et M^{lle} M. Rozenband (2) pour la peroxydiastase, etc.

Comme il est peu probable, en ce qui concerne l'influence des acides, que la zymase diffère des autres diastases et les expériences de Buchner et ses élèves rappelées au début de ce travail, bien qu'entreprises à un point de vue différent et seulement avec les acides acétique, lactique, tartrique, benzoïque et salicylique, confirment cette généralisation, on peut supposer que, dans le cas étudié par nous, la membrane cellulaire de la levure est peu perméable aux acides et protège suffisamment les diastases qu'elle contient contre l'action de ces réactifs; la fermentation du saccharose, qui est un phénomène eudocellulaire, resterait alors possible dans des milieux acides de concentrations très élevées.

(1) GABRIEL BERTRAND, « Sur l'influence paralysante exercée par certains acides sur la laccase. » *C. R.*, t. CXL, I, p. 340, 1907; *Bull. Soc. chim. de Fr.*, 4^e série, t. I, p. 1120, 1907; *Ann. de l'Inst. Past.*, t. XXI, 1907, p. 673.

(2) GABRIEL BERTRAND et M^{lle} M. ROZENBAND. « Sur l'action paralysante exercée par certains acides sur la peroxydiastase. » *C. R.*, t. CXLII, I, p. 297, 1909; *Bull. Soc. chimique de Fr.*, 4^e série, t. V-VI, p. 296, 1909; *Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. XXIII, p. 314, 1909.

Sur la présence d'un *Leptomonas*, parasite de la classe des Flagellés, dans le latex de trois Euphorbiacées ⁽¹⁾,

PAR A. LAFONT

Médecin-major de deuxième classe des troupes coloniales (H.C.)

Directeur du Laboratoire de Bactériologie de l'île Maurice.

Depuis longtemps notre confrère CLARENC nous avait signalé dans la cour de la Malmaison une Euphorbiacée commune, l'*Euphorbia pilulifera* ou *Jean-Robert*, employée couramment en médecine populaire.

Cette plante est annuelle, atteint de 0^m,15 à 0^m,30 de hauteur et renferme un latex abondant qui nous avait suggéré l'idée d'étudier comparativement les sucres lactescents des espèces à lait, très nombreuses à Maurice.

{ Des examens rapides, au milieu de nos recherches sur le Surra, nous avaient révélé la présence de corps oblongs, en suspension dans la gouttelette laiteuse, mais prenant mal les colorants. Ces corps, incolores et transparents, sont des grains d'amidon (fig. I, A) dont la présence est constante dans le latex des Euphorbiacées.

Fin avril notre « attendant » DAVID observa sur quelques échantillons de *Jean-Robert* de petits corps mobiles au sein du liquide. Quelques jours après, je découvris des corpuscules semblables dans une Euphorbiacée voisine, *Euphorbia thymifolia* ou *Rougette*, également laticifère et vivant au voisinage de

(1) Notre 1^{re} note a paru dans les *Comptes Rendus de la Soc. de Biologie*, le 19 juin 1909.

Euphorbia pilulifera, puis, dans une 3^{me} espèce, *Euphorbia hypericifolia*.

Le parasite, dans les 3 plantes, ressemblait à un trypanosome.

DESCRIPTION DU PARASITE.

Avec M. MAYA nous avons étudié le parasite à l'état frais et sur préparations colorées.

Il est allongé, rubané et porte un flagellé à son extrémité.

1^o *A l'état frais* et à un faible grossissement, le parasite, à fond pâle, ondule sur lui-même et ne se déplace pas très vite. On ne le voit pas se tortiller comme un ver ainsi que le fait s'observe avec les Trypanosomes, par exemple celui du Surra.

La lenteur de ses mouvements peut tenir à la viscosité du liquide ainsi qu'aux particules de gomme ou de résine qui s'y rencontrent en abondance et qui parfois l'emprisonnent.

Sa motilité, dans certains cas, est considérablement accrue; il décrit alors des courbes de plus ou moins d'amplitude, soit à droite, soit à gauche, sans sortir généralement du champ du microscope. Il donne l'impression d'un minuscule têtard nageant au sein du liquide.

A un grossissement de 700, selon sa période d'évolution, tantôt il paraît filiforme, tantôt renflé en son centre, tantôt en voie de division longitudinale ou en grosse masse protoplasmique irrégulière. Les extrémités se terminent en pointe, la postérieure étant particulièrement atténuée, souvent tordue sur elle-même. Cet aspect en vrille ou en torsade est fréquent, mais ne s'observe pas sur tous les parasites. On peut compter 2 à 3 torsions, ce qui pourrait donner l'illusion de 2 parasites enroulés l'un autour de l'autre. Au début de nos observations, cette particularité nous avait aussi fait penser à une membrane ondulante rudimentaire, ce qui n'est pas exact, comme nous le verrons plus loin.

On peut observer ces parasites vivants 6 à 7 heures entre lame et lamelle. A mesure que leurs mouvements se ralentissent, le flagellé devient plus aisément perceptible, car il est d'une grande ténuité. Il se dispose alors en spires régulières et paraît souvent plus long que le corps du parasite.

Passé ce temps, les flagellés demeurent immobiles, paraissent morts ou subissent déjà des déformations.

2^o *En goutte pendante* ou sous lamelle lutée à la paraffine, à la

température du laboratoire 20°-22°, nous avons pu suivre le parasite pendant plusieurs jours et observer sa reproduction par dédoublement longitudinal, avec élargissement préalable de son protoplasme; mais ces formes de reproduction se rencontrent déjà dans le suc frais de la plante, quoiqu'en moins grand nombre. On observe aussi de grosses masses protoplasmiques à plusieurs noyaux, avec ou sans flagellés, se divisant en plusieurs parasites.

En plus de ces formes variées, attestant divers stades de développement, apparaissent des sphérules avec un noyau réfringent, à l'intérieur, qui est parfois animé de mouvements très vifs. Ces sphérules ne tardent pas à émettre un flagellé, et au bout de peu de jours ces formes sphériques flagellées dominent, les parasites rubannés paraissant dégénérés et granuleux. Nous avons parfois noté deux flagellés, mais le fait est rare. Les dimensions de la petite sphère varient de 6 à 7 μ , diamètre d'un globule rouge de l'homme, à 3 μ , 2 μ et au-dessous. On voit aussi des formes très petites de 1 μ environ pourvues d'un flagellé et mobiles.

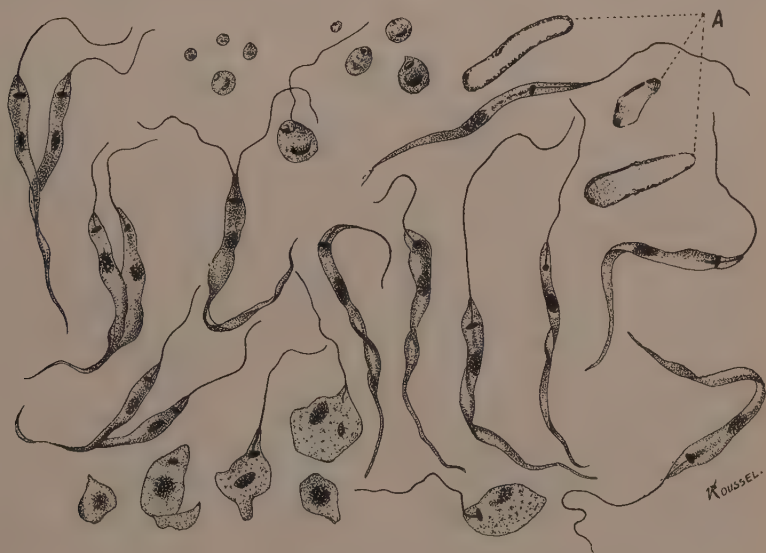


Fig. 4. — *Leptomonas Davidi*. A, grains d'amidon.

Très rarement nous avons noté des flagellés libres pouvant donner l'impression de microgamètes.

Ces milieux en goutte pendante ont réalisé ainsi une véritable culture.

Le parasite vivant ne révèle pas toutes ses particularités, il faut le colorer.

3° *Sur les préparations colorées* au Leishman (fig. 1), le protoplasme est pâle et on distingue deux masses chromatiques : une grosse centrale et une petite antérieure d'où part le flagellé. Le temps de la coloration a varié de 1/4 heure à 1 heure.

La grosse masse, ou noyau proprement dit, occupe la moitié antérieure du corps : elle est formée d'un amas de granules et ne se colore pas d'une façon bien intense.

La petite masse (blépharoplaste ou centrosome) se colore au contraire vivement; elle est située à peu de distance de l'extrémité antérieure.

Le flagellé part en général du centrosome. Sur nos premières préparations, le colorant n'établissait pas très nettement cette particularité, qui est bien mise en évidence avec de bonnes colorations au Giemsa.



Fig. 2. — *Trypanosoma Evansi* (Surra de Maurice).

Sur beaucoup d'exemplaires, on reconnaît, il est vrai, que le flagellé n'adhère pas à l'extrémité du corps situé en avant de lui. Nous croyons que, tirailé pendant l'étalement, le flagellé est légèrement détaché du centrosome et qu'il en est parfois complètement arraché.

A remarquer que sa disposition est l'inverse de celle des trypanosomes (voir fig. 2 ci-contre).

Dimensions. Le parasite adulte mesure 18μ , 5 de long sur 4μ , 6 de large sans compter le flagellé qui atteint 10 à 12 . Les chiffres ci-dessus représentent la moyenne de 10 mensurations.

Les formes en voie de division plus trapues donnent :

14 μ , 6 longueur.....	} moyenne de trois mensurations (1).
3 μ , 3 largeur.....	
10 μ , 3 flagellé.....	

(1) Les mensurations ont été faites par M. MAYA par le procédé du micromètre oculaire et par comparaison, pour plus d'exactitude, avec le micromètre objectif; ong^r du tube réglé à 160 m.m. Ocul. compens. 6 avec l'object. apochrom. de 2,0 m.m. de Zeiss.

M. MESNIL, qui très obligeamment a examiné quelques-unes de nos préparations et nous a guidé dans cette étude, a noté des dimensions un peu supérieures.

D'après lui, le corps du parasite a 20μ de long sur 2μ de largeur moyenne et le flagellé mesure de 10 à 15μ de long.

Ces légères divergences s'expliquent par la variation de forme de ces flagellés d'une plante à l'autre.

De plus, nous pensons, eu égard à son extrême fragilité, que l'extrémité libre du flagellé est souvent brisée dans les manipulations (étalements, coloration, etc.). Il n'est pas rare de retrouver des fragments épars sur les lames.

Sur des échantillons bien conservés, ce flagellé en effet dépasse quelquefois en longueur le corps du parasite.

Dans son ensemble, notre flagellé est de dimensions supérieures au trypanosome du Surra de Maurice chez les Equidés et les Bovidés.

Son extrémité antérieure n'offre rien de particulier; son extrémité postérieure, plus effilée, avec son aspect en torsade, est remarquable sur de bonnes préparations. Le parasite a en effet une structure rubannée, les 2 bords ou 1 seul paraissant souvent ondulés; surtout quand un bord seul est ondulé, on croirait à une membrane allant s'insérer tout près du blépharoplaste et longeant tout le corps sans le dépasser. C'est ce qui nous avait fait croire au début à l'existence d'un vestige de membrane ondulante et porté à classer le parasite dans les formes *Herpetomonas* ou parmi les trypanosomes jeunes reproduits par cultures.

Mais, avec M. MESNIL, sur des préparations fortement colorées au Giemsa (une à plusieurs heures), nous avons reconnu sans peine qu'il n'y avait là qu'une apparence, car le bord ne présente pas de filament bordant comparable au flagellé antérieur.

La division est longitudinale et n'offre pas de particularités pour les parasites rubannés. A signaler pourtant, lors de la division longitudinale, la présence, chez certains des flagellés, de 2 ou 3 grosses masses chromatiques occupant et remplissant l'extrémité postérieure sans qu'il y ait nécessairement dédoublement du centrosome.

Nous n'avons pas assisté aux phénomènes de division des petites sphères; mais ces dernières, bien colorées, avec leur gros noyau et leur petit noyau, rappellent beaucoup certaines for-

mes enkystées du Kala-Azar sauf l'orientation différente du centrosome qui est parallèle au gros noyau, tandis qu'il est perpendiculaire ou légèrement oblique dans cette dernière affection.

Nous n'insisterons pas sur les parasites à protoplasme irrégulier, très élargi, ressemblant à des raquettes, avec un seul flagelle accompagné d'un ou plusieurs noyaux. Il peut s'agir de formes aberrantes et peut-être de formes de souffrance.

Sur certaines préparations, provenant de plantes excessivement parasitées, on rencontre parfois des parasites en amas, simulant de fausses rosaces; nous pensons à un phénomène d'agglutination spontanée.

En résumé, la présence de 2 masses protoplasmiques : une grosse masse ou noyau proprement dit, une petite masse (centrosome ou blépharoplaste), et un flagellé, le mode de reproduction longitudinale joint à l'absence de membrane ondulante permettent de classer ce flagellé dans le genre *Leptomonas*. Nous l'avons désigné sous le nom de *Leptomonas Davidi* du nom de celui d'entre nous qui l'a vu le premier.

On ne saurait méconnaître l'étroite parenté qu'il y a entre les diverses formes de ce parasite et les formes jeunes de trypanosomes obtenues par culture ainsi qu'avec les *Leishmania*. Une étude cytologique plus approfondie révélera sans doute d'intéressants détails de structure fine.

Sa présence dans le suc de petites Euphorbiacées communes est pour le moins inattendue et mérite d'être signalée en raison de la nouveauté du fait.

ESSAIS DE CULTURES SUR MILIEUX APPROPRIÉS.

Les essais tentés jusqu'ici ne donnent pas des résultats bien appréciables. Nous avons pu observer les flagellés vivant 24 à 48 heures en milieux lactescents en pipettes et sur gélose additionnée de suc d'euphorbes.

Lesensemencements sur milieu de CH. NICOLLE ont permis de conserver le flagellé 16 jours et de le voir se reproduire par bipartition longitudinale. On observe souvent des amas irréguliers avec flagellés généralement à la périphérie. Nous n'avons pas encore réussi de passages, mais nous sommes d'avis avec M. MESNIL qu'il pourra se cultiver sur de bons milieux, comme le parasite de DONOVAN et quelques autres.

ESSAIS D'INOCULATION AUX PETITS ANIMAUX.

Nous nous sommes servis comme matériel d'expérience de souris et de moineaux.

Deux lots de 5 souris ont reçu à dose croissante de V à L gouttes : le 1^{er} lot, de latex parasité et le 2^e lot, de latex non parasité. Les inoculations ont été pratiquées sous la peau du dos. Une seule souris du 2^e lot a fait une petite eschare. On s'est servi du latex de *Jean-Robert*, plus abondant.

Il est mort des souris dans les 2 lots. Aucune infection n'a été notée ni localement ni dans les examens du sang.

Dans une 2^e expérience, un lot de 6 moineaux a reçu des doses croissantes de suc contaminé (même plante). 3 ont succombé, 3 ont survécu. La cause de la mort n'a pu être établie.

La mortalité a sévi également sur des moineaux témoins.

M. le docteur MÉNAGÉ, à Poudre-d'Or, est arrivé aux mêmes résultats négatifs chez des moineaux. Mais chez quelques-uns de ses oiseaux, M. CHAIBA a retrouvé des vers intestinaux.

En résumé, toutes nos expériences sont négatives et le *Leptomonas* ne paraît pas pathogène chez les 2 espèces précitées, du moins par inoculation sous-cutanée.

EUPHORBIACÉES PARASITÉES.

Ainsi que nous l'avons signalé au début de cette étude, le

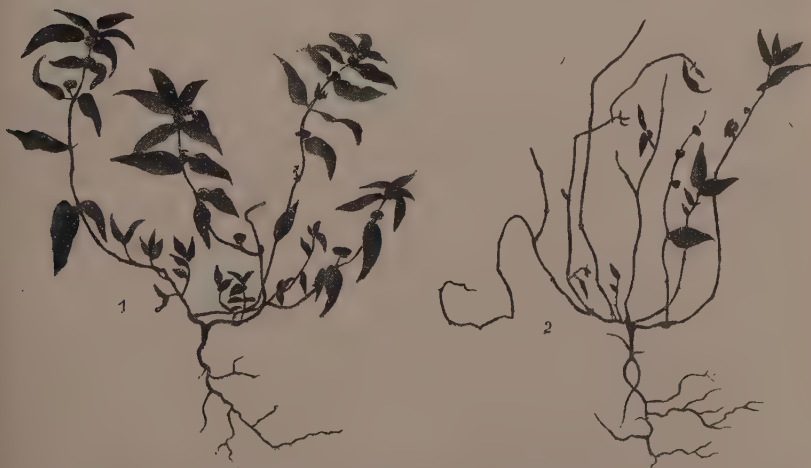


Fig. 3. — *Euphorbia pilulifera* ou *Jean-Robert* (photographie d'après une aquarelle). 1. Plante saine; 2. Plante parasitée.

Leptomonas Davidi se rencontre jusqu'à ce jour à Maurice dans 3 espèces d'Euphorbes : *E. pilulifera* (fig. 3 et 7), *E. thymifolia*, (fig. 4 et 7), *E. hypericifolia* (fig. 5).

Je signale de suite une particularité en ce qui concerne *E. thymifolia*. Il existe 2 variétés de cette plante, l'une à tige ordinairement rougeâtre et à feuilles foncées, l'autre à tige pâle et à feuilles constamment vert pâle (fig. 4, 1 et 2). Les botanistes n'attachent



Fig. 4. — *Euphorbia thymifolia* ou Rougette.

1. Variété à feuilles foncées. 2. Variété à feuilles vert pâle (d'après une aquarelle).

pas une grande importance à ces caractères qu'il considèrent comme secondaires. Il est néanmoins curieux de constater que les deux variétés sont assez souvent parasitées.

C'est dans *E. hypericifolia* que j'ai rencontré la plus grande variété de flagellés et que l'étude m'en a paru le plus commode, mais *E. pilulifera* se prête aussi très bien aux investigations.

Ces petites euphorbes, extrêmement rustiques, sont annuelles. On les rencontre le long des chemins, des fossés, des ponts, des voies ferrées, et aux alentours des gares, des cours des maisons; dans les endroits pierreux, non envahis par les herbes. Toutes ont une racine pivotante très profonde que l'on casse fréquemment en voulant les arracher. Sauf *E. hypericifolia*, assez rare, leur aire de distribution est très vaste et s'étend du bord de la mer à 4 et 500 mètres d'altitude et parfois au delà.

D'après le docteur Clément DARURY, ces plantes très connues en médecine populaire sont réputées anti-asthmiques, astringentes, détersives, vermifuges et emménagoques, diaphorétiques et stomachiques. On les emploie couramment contre l'asthme, la

dysenterie, les aphtes, coliques, plaies et l'aménorrhée, les fièvres et la dyspepsie.

L'*E. hypericifolia* (fig. 5) est nommée communément herbe mal levée ou herbe colique et passe pour renfermer une huile grasse.

Le latex de ces Euphorbes ainsi que celui d'une autre espèce, *E. peplus* ou réveille-matin, vivant dans leur voisinage, est franchement acide, ce dont on peut s'assurer au tournesol sensible, mais cette quatrième espèce (fig. 6) n'a jamais été rencontrée parasitée jusqu'à ce jour. Il était

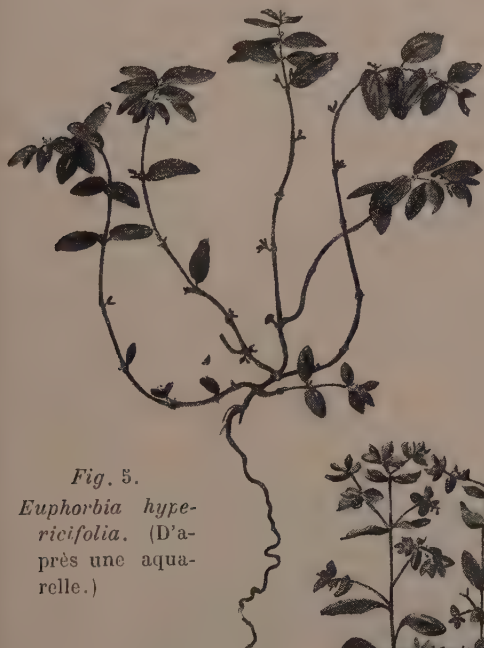


Fig. 5.
Euphorbia hypericifolia. (D'après une aquarelle.)

intéressant de souligner cette exception.

Les plantes des espèces précitées ne renferment pas toutes des parasites, les unes en contiennent un nombre immense à l'état de culture pure, d'autres n'en montrent que quelques-uns et un assez grand nombre n'en ont pas du tout.

L'un de nous a fait cette remarque intéres-



Fig. 6.— *Euphorbia peplus* ou Réveille-matin
(D'après une aquarelle.)

sante qu'une branche de la même plante peut être parasitée et la branche voisine ne pas l'être; de même, en sectionnant une tige en un point l'on peut recueillir une goutte de latex fourmillant de flagellés et ne plus en voir aux sections suivantes, mais le fait n'est pas constant. En tout cas la répartition du parasite dans le suc de nos Euphorbes n'est pas toujours régulière.

Tandis que les flagellés meurent rapidement entre lame et lamelle, je les ai retrouvés très mobiles 10 heures après à l'extrémité d'une tige séparée de la plante et abandonnée à la température du laboratoire : 22 à 23° environ.

Généralement la plante parasitée est de mauvaise venue, souffre dans sa croissance si elle est jeune, ou dépérit lentement si elle est déjà forte. On voit ses feuilles prendre un aspect grillé, se recroqueviller et tomber; la tige devient brunâtre, squelettique et se dessèche rapidement. Il n'est pas rare de voir des plantes conserver une branche ou deux en pleine végétation à côté des autres tiges desséchées.



Fig. 7. — A gauche un exemplaire sain de *Euphorbia pilulifera* ou Jean-Robert. Au milieu, la même espèce parasitée. A droite, *E. thymifolia* ou Rougette.
(D'après des photographies directes.)

Sur la zone du littoral, cet aspect chétif et misérable est très marqué chez le *Jean-Robert* (*E. pilulifera*) parasité (v. fig. 7).

Il est beaucoup moins accentué chez les *E. hypericifolia*. Quant à la Rougette ou *E. thymifolia* et ses variétés, elles ne paraissent pas souffrir, cette espèce n'étant pas érectile comme les deux autres, mais traçante à la surface du sol.

On trouve aussi des échantillons vigoureux, en pleine croissance, largement parasités, qui ne paraissent pas trop périlcliter.

Nous pensons nous trouver en présence d'une véritable maladie des Euphorbes. Aussi proposons-nous de nommer « *Flagellose* » la maladie nouvelle de ce végétal et de rapprocher une fois de plus les maladies communes au règne animal et au règne végétal.

L'analogie est remarquable entre les spirilloses et les trypanosomiasés de l'homme et des animaux et les « flagellosés » des plantes que nous décrivons.

RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE DU « LEPTOMONAS DAVIDI »

I. *A Maurice.*

Le laboratoire a examiné des centaines d'Euphorbes prélevées dans les diverses régions de l'île. Le parasite existe partout et les plantes du littoral, plus ensoleillées, sont davantage parasitées.

De tous nos examens, nous ne retenons qu'un chiffre de 205 *Euphorbia pilulifera* recueillis à la Malmaison, à Saint-Pierre, Moka, au Réduit, à Rose-Hill, Beau-Bassin, Port-Louis (gare, Champ-de-Mars, jardin du Muséum), Pamplémousses (jardin du Roi), Curepipe, Plaisance, Tamarin, Rivière-Noire (Yemen et Lamivoie).

Sur ces 205 *E. pilulifera*, nous avons rencontré 70 plantes parasitées, ce qui donne une proportion de 34,1 0/0.

La proportion est un peu moindre chez *E. thymifolia*, 33,3 0/0, mais la recherche du flagellé est plus difficile dans cette espèce.

L'*E. hypericifolia*, qui doit son nom à sa ressemblance avec le Millépertuis, est assez rare et nous n'avons pu établir si le flagellé s'y trouvait fréquemment.

Par comparaison, nous avons recherché le parasite sans succès dans le suc ou le latex de 50 espèces. Nous citons les espèces suivantes :

Euphorbia peplus ou Réveille-matin.
Manihot ceara (suc du tronc et des feuilles.)
Manihot utilisima (plusieurs variétés).
Jatropha curcas ou Pignon d'Inde.
Jatropha multifida ou Arbre corail.
Jatropha gossipifolia.
Croton tiglium.
Ricinus communis.
Hevea brasiliensis.
Castilloa.
Cryptostegia madagascarensis.
Fontumia elastica.
Banga ou Caoutchouc de Madagascar.
Euph. tirucalli ou Colli.
E. splendens ou Couronne d'épines.
Phyllanthus niruri ou Curanellie blanche.
Phyllanthus urinaria ou Curanellie rouge.
Phyllanthus casticum ou Castique rouge.
Phyll. phyllyreaefolius ou Bois balié la rivière.
Ficus elastica.
Ficus indica multipliant, ou figuier de banians.
Ficus mauritiana ou figuier sauvage.
Ficus à larges feuilles.
Cissampelos mauritiana ou *Paredia brava*.
Excæcaria sebifera ou arbre à suif.
Plumiera retusa ou frangifranier.
Artocarpus integrifolia ou Jacquier.
 Plusieurs espèces de *Landolphia*.
Vahea madagascarensis.
Batatas edulis ou patate.
Ipomea mauritiana ou patate à Durand.
Allamanda ou arbre à caoutchouc.
Argemone medicana ou Chardon du pays.
Lastron (composée).
 Herbe poison.
 Liane à fleur jaune.
 Liane cire.
 Songe ou Taro.
 Sapotillée rouge.
 Capucine.
 Baobab.
 Papayer mâle et femelle (tronc et feuilles).
 Plusieurs grandes Euphorbiacées et autres arbustes à suc irritant.
 Des *Ficus*, des lianes, que nous n'avons pu déterminer.

Fait remarquable, le parasite ne se rencontre que dans les petites Euphorbes annuelles et, jusqu'ici, jamais dans les espèces

arborescentes et les grands arbres, comme si ces espèces très vigoureuses se trouvaient moins vulnérables au parasitisme, bien qu'on rencontre sur leur tronc ou leur feuillage des insectes variés et parmi eux des punaises.

A Maurice, la découverte du flagellé a été confirmée rapidement par M. CLAITE qui en avait eu connaissance, comme élève, au laboratoire et qui en a reconnu l'existence dans le Jean-Robert et la Rougette; par M. le docteur MÉNAGÉ dans la région de Poudre-d'Or. M. le docteur MONPLÉ l'a retrouvé à la Grande-Rivière. M. D'EMMEREX, directeur du Muséum, lui a retrouvé les caractères d'un *Leptomonas* et a fait les mêmes constatations que le laboratoire en l'étudiant en goutte pendante.

Depuis l'invasion du Surra, le pays est abondamment pourvu de microscopes et les administrateurs des propriétés ont revu sans peine le parasite qui a passionné Maurice, car la croyance générale pensait retrouver là l'origine du Surra.

II. Dans les régions tropicales.

L'ubiquité de ce flagellé à Maurice m'a donné l'idée de le faire rechercher dans les pays voisins.

Mon collègue VINCENT, à la Réunion, a bien voulu s'intéresser à cette question et a pu m'annoncer le 8 juin que ses recherches avaient été couronnées de succès. Le parasite se retrouvait sur la Rougette d'abord, le Jean-Robert ensuite, en aussi grande abondance qu'à Maurice. Sur les préparations qu'il nous a aimablement envoyées, le flagellé était identique au nôtre.

M. le vétérinaire CAROUGEAU, chef des services techniques à Madagascar, l'a d'abord cherché, sur notre demande, sans succès sur les hauts plateaux, mais le 2 août il m'en signalait la présence dans les mêmes plantes aux environs de Tamatave et il a pu en rapporter des spécimens en Europe.

Notre collègue BROQUET, à Saïgon, ne l'a pas rencontré encore mais il est fort probable que des recherches ultérieures le feront découvrir en Indo-Chine.

Enfin, tout récemment, DONOVAN (1) déclare avoir trouvé le *Leptomonas* dans le latex des *Euphorbia pilulifera* de Madras. Pour

(1) *Lancet*, 20 novembre 1909, p. 1495.

lui, l'organisme diffère des flagellés connus parasites des animaux et mérite d'être placé dans un nouveau genre, pour lequel il propose le nom de *Phytomonas*.

Son aire de distribution doit s'étendre, selon nous, à toute la zone tropicale ou pré-tropicale, ce qui ne saurait manquer d'en faire progresser l'étude, l'orientation des recherches se trouvant aiguillée vers les plantes.

RECHERCHE DE L'AGENT VECTEUR.

La maladie des Euphorbes me paraissant bien établie, il était naturel de rechercher quel pouvait être l'agent vecteur du parasite.

Les *Leptomonas* étant des parasites habituels du tube digestif de beaucoup d'insectes et l'analogie avec le mode de transmission des trypanosomiasés ne pouvant manquer de frapper l'observateur, c'est du côté des insectes que le laboratoire a orienté ses recherches.

Tout d'abord, comme nous avons retrouvé plusieurs fois sur nos lames des flagellés mêlés à des microbes variés et que la présence des microbes a été notée dans le suc des plantes, on pouvait se demander s'il n'y avait pas possibilité d'absorption par le sol de ces corpuscules mobiles, à la suite de pluies abondantes.

L'abondant latex du *Jean-Robert* pouvait à la rigueur se prêter merveilleusement à ce mode de contamination.

Nous avons alors réalisé l'expérience suivante :

4 plantes, 2 plantes saines et 2 plantes largement infectées, sont mises en contact dans un verre d'eau terreuse et suivies pendant 1 mois. Les parasites ont été constamment retrouvés dans le lot infecté et jamais dans les plantes saines. 1 goutte d'eau ajoutée au latex parasité, altérant sous lamelle les flagellés, il n'y avait pas lieu d'infecter l'eau du verre et cette expérience n'a pas été faite. L'eau et le sol pouvaient donc être écartés comme intermédiaires.

Bientôt le laboratoire remarqua la présence de nombreux insectes sur les petites Euphorbes, notamment sur le *Jean-Robert* : les uns, hôtes accidentels, les autres, hôtes permanents.

Parmi les hôtes accidentels, nous avons noté des mantes, des pucerons blancs, des fourmis et des mouches.

Les hôtes permanents étaient de minuscules Hémiptères,

pourvus d'une trompe puissante. A un examen plus approfondi, nous avons reconnu des Hémiptères de dimensions et d'espèces variées, à très belles colorations. Nous avons pensé que parmi elles se trouvait l'espèce convoyeuse du parasite (1).

De nombreuses et difficiles dissections, car ces petites punaises se brisent aisément, ne nous ont pas tout d'abord fait retrouver le flagellé ni à Maurice ni à la Réunion, où le docteur VINCENT poursuivait également cette étude. J'attribuai ce premier insuccès à ce que les insectes étaient capturés pendant le jour.

Sur des spécimens capturés de nuit, le *Leptomonas* a été retrouvé 4 fois à Maurice dans l'intestin de l'insecte. M. DAVID, qui nous a beaucoup aidé dans cette recherche, a été assez heureux pour mettre le flagellé en évidence. Plus tard, nous l'avons observé aussi le jour.

Le flagellé n'a été vu par nous que chez une des espèces le *Nysius euphorbiae* (v. la note ci-dessous). Ces petites punaises suceuses paraissent au repos sur la plante pendant le jour et ne se gorgent de nourriture que la nuit.

Bien d'autres expériences sont à tenter, en particulier sur le cycle évolutif du Flagellé dans l'intestin des Hémiptères; mais nous avons pensé que cette étude d'ensemble, pour incomplète qu'elle soit, pourrait faciliter l'étude si captivante des protozoaires chez les plantes.

En terminant, je tiens à adresser mes bien vifs remerciements à M. BONAME, directeur de la Station agronomique, qui m'a aidé beaucoup pour la connaissance des plantes à latex du pays, et à notre ami, M. MESNIL, pour l'assistance qu'il a bien voulu nous prêter dans ces recherches.

Laboratoire de Bactériologie du Réduit, Ile Maurice.

(1) J'ai remis les insectes qui m'ont été envoyés, pour détermination, par M. LA-FONT, à M. E. BORDAGE, ancien directeur du Musée de la Réunion, chef des travaux pratiques au laboratoire d'Évolution de la Sorbonne. Voici les renseignements que m'a communiqués M. BORDAGE :

L'espèce trouvée sur la *Rougette* est un Lygéide qui a pour nom *Lachnophorus guttulatus* Reut.; il avait déjà été signalé à Madagascar.

Sur le *Jean-Robert*, il y avait deux espèces distinctes de punaises. L'une d'elles est un Coréide, le *Corizus hyalinus* Fabr., signalé également à Madagascar et aussi dans la plupart des régions tropicales des deux hémisphères. L'autre est un Lygéide du genre *Nysius*, que M. HORVATH, de Budapest, a bien voulu étudier spécialement; il s'agit, pour lui, d'une espèce nouvelle qu'il se propose de décrire sous le nom de *N. euphorbiae*. — F. MESNIL.

Traitement des trypanosomiasés chez les chevaux

par l'orpiment seul ou associé à l'atoxyl ou à l'émétique de potasse

PAR M. A. THIROUX

*Médecin de première classe des troupes coloniales, directeur du laboratoire
de bactériologie de Saint-Louis, et*

M. L. TEPPAZ

Vétérinaire en second hors-cadres, détaché au service de l'agriculture du Sénégal.

Travail du Laboratoire de Bactériologie de Saint-Louis

TRAITEMENT DU SURRA

Dans deux précédents mémoires (1), nous avons rapporté les heureux résultats que nous avons obtenus dans le traitement de la Souma, de la Baléri et de la Trypanosomiasé des chevaux de Gambie, par l'orpiment seul ou associé à l'atoxyl. Nous avons eu plus de difficultés à obtenir les mêmes résultats avec le Surra, et nous avons pensé, un moment, que la même méthode ne pourrait être appliquée à cette trypanosomiasé. Nous nous sommes cependant rendu compte de ce que nos insuccès et les accidents mortels que nous observions au cours du traitement atoxyl-orpiment étaient dus, non à la maladie, mais à une intoxication par l'atoxyl.

Depuis que ce médicament a été employé dans les trypanosomiasés, les chevaux ont été reconnus comme le supportant moins bien que les autres espèces animales. Parmi les chevaux, il semble même y avoir des races plus sensibles que d'autres, et nous ne croyons pas que l'on puisse admettre que les doses à

(1) Ces *Annales*, mars 1909, p. 240, et mai 1909, p. 426.]

administrer sont proportionnelles au poids des animaux, tout en restant efficaces.

Nous avons obtenu des succès dans le traitement de la Souma, de la Trypanosomiase des chevaux de Gambie, et aussi probablement dans un cas de Surra, rapporté dans notre premier mémoire, alors que nous avons opéré sur des chevaux de la taille des arabes, et qui en sont d'ailleurs issus, mais lorsque nous avons voulu traiter à l'atoxyl des chevaux M'Baiards, un peu plus petits, et de la taille des poneys, les doses de 5 grammes et même de 4 grammes, se sont montrées toxiques. Les animaux mouraient en 12 et 48 heures, de diarrhées cholériformes, d'accidents paralytiques, débutant par les membres postérieurs, ou d'accidents nerveux, caractérisés par une sorte de fureur, accompagnée de mouvements en cercle, l'animal ne s'arrêtant que pour tomber et mourir.

Par contre, les doses de 2 gr. 50 à 3 grammes d'atoxyl se sont montrées inefficaces. Les rares animaux, qui ont supporté une ou plusieurs doses de 5 grammes ont guéri, tandis que tous ceux qui n'en ont reçu que des doses de 2 gr. 50 à 3 grammes ont tous présenté des rechutes. Il est donc indispensable de déterminer très exactement pour chaque race de chevaux la dose d'atoxyl à employer, *et dans certaines races, la dose efficace est pratiquement trop près de la dose toxique pour être administrée sans danger.*

Holmes (1) rapporte bien avoir guéri, dans quelques cas, des chevaux (poneys de 250 kilos, du poids des chevaux M'Baiards, que nous avons employés), avec des doses de 2 grammes d'atoxyl et de 5 grammes d'orpiment; dans nos observations, ces doses se sont montrées tout à fait insuffisantes pour guérir ces animaux. Nous ne sommes pas non plus d'accord au point de vue de la dose toxique avec cet auteur, qui estime qu'elle est de 10 grammes pour 250 kilos (500 livres), la race de chevaux sur laquelle il a expérimenté est, comparativement à celle des M'Baiards du Sénégal, 4 fois plus résistante.

En présence des difficultés que l'on rencontre dans l'emploi de l'atoxyl chez les chevaux de certaines races de petite taille, nous avons dû essayer d'autres méthodes. Nous avons donc traité un certain nombre de chevaux à l'émétique de potasse.

(1) HOLMES. Treatment of Surra by atoxyl and orpiment. *Journal of trop. veterinar. science*, 1908, Nov. III, p. 434-442.

Cette méthode, ainsi que nous le verrons plus loin, nous a donné une bonne proportion de guérisons, mais l'injection d'émétique dans les veines ne deviendra, pas plus chez le cheval que chez l'homme, une opération courante pour des praticiens non spécialistes. Il semble très facile, au premier abord, de placer une aiguille dans la jugulaire, et de ne monter la seringue dessus, que lorsque le sang s'écoule par le chas de l'aiguille, mais il faut compter avec les mouvements du cheval, qui au beau milieu de l'opération, même maintenu par un tord-nez, fait sortir l'aiguille de la veine ou la fait traverser le vaisseau de part en part. A la suite des injections défectueuses, on observe des tuméfactions très étendues de toute l'encolure. La suppuration est exceptionnelle lorsqu'on opère proprement, et avec des instruments bouillis; mais lorsqu'on incise les tumeurs, il s'en écoule un liquide brunâtre, résidu de l'injection irritante, entouré d'une véritable coque de tissu sclérosé! Ces tumeurs abandonnées à elles-mêmes, finissent par se résorber, cependant, il faut plusieurs mois pour les voir disparaître. En outre qu'elles peuvent immobiliser le cheval pour un temps assez long, elles ont aussi l'inconvénient d'empêcher d'atteindre la jugulaire pour les injections suivantes. Dans le cas où cet accident arriverait successivement des deux côtés, on peut facilement faire des injections intraveineuses dans les veines dites antibrachiales qui se trouvent à la face interne des membres antérieurs, à la condition, l'animal étant maintenu par le tord-nez, de lui faire tenir relevé, le pied du côté opposé à celui que l'on doit injecter.

Le cheval supportant très bien de fortes doses d'émétique, par la voie stomacale, nous avons administré le médicament en électuaire, de la façon qui a été indiquée pour l'orpiment, dans notre premier mémoire. Mais, pris de cette manière, l'émétique semble agir très peu sur les trypanosomes; c'est ainsi qu'une dose de 5 grammes prise par ingestion, n'a pu faire disparaître les parasites du sang d'un cheval (Obs. n° 8). Nous avons donc abandonné ce mode d'administration peu efficace.

Nous avons aussi associé l'orpiment à l'émétique; nous verrons même plus loin que c'est cette méthode qui nous a donné les résultats les meilleurs et les plus rapides. Enfin, devant la difficulté des injections intraveineuses, dans des régions, où le plus souvent, c'est un officier ou un administrateur qui aura à

appliquer le traitement, nous sommes revenus à la méthode la plus simple de l'ingestion d'orpiment, qui nous a donné des résultats très satisfaisants.

Les doses, le mode d'administration et les intervalles ont été ceux indiqués dans notre premier mémoire, pour ce qui concerne le traitement à l'orpiment seul ou associé à l'atoxyl.

Nous avons seulement dans quelques cas, poussé les doses d'orpiment jusqu'à 40 grammes chez des animaux qui avaient déjà antérieurement subi un traitement à l'orpiment. Il nous semble intéressant de signaler que, dans ce cas, ils conservent longtemps une certaine accoutumance qui permet de dépasser la dose de 30 grammes.

Dans le traitement par l'émétique seul, nous avons injecté dans la jugulaire 1 gramme à 1 gr. 20 d'émétique de potasse, en solution dans 40 à 50 cent. cubes d'eau salée à 7 pour mille, et nous avons fait deux séries de 5 injections séparées par 4 jours d'intervalle; les deux séries séparées elles-mêmes par 8 jours de repos. Dans le traitement émétique-orpiment, nous avons repris les mêmes intervalles que dans le traitement atoxyl-orpiment, soit : 2 séries de 5 injections d'émétique, alternant avec 5 ingestions d'orpiment, un jour d'intervalle entre chaque médication et 8 jours de repos entre les deux séries.

Les animaux traités, au nombre de treize, ont tous, sauf un, été infectés expérimentalement, point qui a son importance, car nous avons cru remarquer que, chez les chevaux, la trypanosomiase expérimentale est plus grave que la maladie contractée naturellement et plus difficile à guérir. Le virus employé a été fourni par un dromadaire surré, qui nous avait été confié par M. le Commissaire général du gouvernement en Mauritanie, pour des essais de traitement.

OBSERVATIONS

I. — *Quatre chevaux traités par l'émétique de K seul.*

CHEVAL n° 1.— 3 ans, de la race des chevaux dits Baiards, de la taille d'un poney et du poids de 250 K^{os} environ. Acheté sur le marché de Saint-Louis. Inoculé sous la peau le 1^{er} novembre 1908 avec du sang de chien infecté de Surra (origine dromadaire).

26 novembre. Trypan. très rares. A. G. (1) forte. Injection 1^{re} émétique de K dans la jugulaire. — 27, 28. Trypan. rares. A. G. forte. — 29, 30. 0 trypan. A. G. notable. — 1^{er} décembre. 0 trypan. 1^{re} émétique. — 2. Œdème douloureux de la gouttière jugulaire. — 6. 0 trypan. A. G. notable. — 4, 5. 0 trypan. A. G. forte. — 6. 0 trypan. A. G. forte. 1^{re} émétique. — 7, 9, 10. 0 trypan. A. G. forte. — 11. 0 trypan. A. G. notable. 1^{re}, 20 émétique. — 12, 13. 0 trypan. A. G. légère. — 15. 0 trypan. A. G. légère. 1^{re}, 20 émétique. — 8 jours de repos. — 17, 18, 21. 0 trypan. A. G. très légère. — 23. 0 trypan. A. G. notable. 1^{re}, 20 émétique dans la veine anti-brachiale, la voie jugulaire étant devenue impraticable des deux côtés. — 24, 26. 0 trypan. A. G. notable. — 28. 0 trypan. A. G. notable. 1^{re}, 20 émétique. — 29, 31. 0 trypan. A. G. légère. — 2 janvier 1909. 0 trypan. A. G. légère. 1^{re}, 20 émétique. — 4, 5. 0 trypan. A. G. très légère. — 7. 0 trypan. A. G. très légère. 1^{re}, 20 émétique dans la jugulaire. — 8, 9. 0 trypan. A. G. 0. — 12. 0 trypan. A. G. 0. 1^{re}, 20 émétique. — Du 13 janvier au 24 avril. 0 trypan. A. G. légère ou = 0. L'animal considéré comme guéri est réinoculé positivement le 24 avril pour servir à une nouvelle expérience

CHEVAL n° 2. — Cheval Baiard, de taille assez élevée, appartenant à l'escadron de spahis rentré de Mauritanie infecté de Surra.

15 avril 1909. Trypan. non rares. A. G. forte. — 16. Trypan. rares. A. G. notable. — 17. 0 trypan. A. G. notable. 1^{re} émétique de K dans la jugulaire. — 23. 0 trypan. A. G. forte. 1^{re} émétique. — 29. 0 trypan. A. G. forte. 1^{re} émétique. — 4 mai. 0 trypan. A. G. légère. 1^{re} émétique. — 9. 0 trypan. A. G. forte. 1^{re} émétique. — 8 jours de repos. — 18. 0 trypan. A. G. notable. 1^{re} émétique. — 24. 0 trypan. A. G. légère. 1^{re}, 20 émétique. — 29. 0 trypan. A. G. forte. 1^{re}, 20 émétique. — 5 juin. 0 trypan. A. G. très légère. 1^{re}, 20 émétique. — 11. 0 trypan. A. G. très légère. 1^{re}, 20 émétique. — Du 12 juin au 10 septembre, 0 trypan; l'agglutination globulaire devient peu à peu égale à 0. Dès le 21 juin, le cheval est remis en service (voiture à 4 roues). En septembre, il est en parfait état et peut être considéré comme guéri.

CHEVAL n° 3. — Baiard, 20 ans, donné par son propriétaire

(1) A. G. signifie agglutination globulaire.

pour servir aux expériences. Inoculé sous la peau le 12 février 1909 avec du sang de chien infecté de Surra (origine dromadaire).

18 février. Trypan. nombreux. A. G. notable. Injection 1^{er} émétique de K dans la jugulaire. — 19, 20, 22, 23. 0 trypan. A. G. très légère. — 24. 0 trypan. A. G. légère. 1^{er} émétique. — 25, 26, 27, 1^{er} mars. 0 trypan. A. G. 0. 1^{er}, 20 émétique. — 2, 3. 0 trypan. A. G. notable. — 5. 0 trypan. A. G. notable. 1^{er}, 20 émétique. — 9. 0 trypan. A. G. forte. 1^{er}, 20 émétique. — 8 jours de repos. — 10, 13, 15. 0 trypan. A. G. 0. — 16, 0 trypan. A. G. notable. 1^{er} émétique. — 17. 0 trypan. A. G. forte. — 23. 0 trypan. A. G. notable. 1^{er}, 20 émétique. — 24. 0 trypan. A. G. 0. — 29. 0 trypan. A. G. 0. 1^{er}, 20 émétique. — 3 avril. 0 trypan. A. G. légère. 1^{er}, 20 émétique. — 4. 0 trypan. A. G. notable. — 8. 0 trypan. A. G. notable. 1^{er}, 20 émétique. — Du 9 avril au 4 mai. 0 trypan. état général très satisfaisant. — 5. *Rechute*. Trypan. nombreux, l'animal est soumis au traitement mixte atoxyl-orpiment (v. plus loin).

CHEVAL n° 4. — Baiard, 11 ans, acheté sur le marché de Saint-Louis. Inoculé sous la peau le 11 avril 1909 avec du sang de cheval infecté de Surra (origine directe dromadaire).

15 avril. Trypan. rares. A. G. notable. — 16, 17. Trypan. nombreux. A. G. forte. — 19. 0 trypan. A. G. très forte; pétéchies sur les conjonctives, avec hémorragies et larmolement de sang, état général mauvais. Injection 1^{er} émétique de K dans la jugulaire. — 20. 0 trypan. A. G. forte, les pétéchies ont bruni; l'état général est meilleur. — 23. 0 trypan. A. G. notable. — 24. 0 trypan. A. G. forte. 1^{er} émétique. — 27. 0 trypan. A. G. très forte. — 29. 0 trypan. A. G. notable. 1^{er} émétique. — 2, 3 mai. 0 trypan. A. G. notable. — 4. 0 trypan. A. G. forte. 1^{er} émétique. — 7. 0 trypan. A. G. notable. — 9. 0 trypan. A. G. légère. 1^{er} émétique. Etat général satisfaisant. — Le traitement est arrêté après la 1^{re} série de 5 injections. — Du 10 au 25. 0 trypan. A. G. légère. Etat général satisfaisant. — 31. 0 trypan. A. G. notable. Etat général mauvais, amaigrissement œdèmes. — 3 juin. *Rechute*. Trypan. non rares. A. G. forte. L'animal est abattu le 4 juin.

II. — Deux chevaux traités par l'orpiment seul.

CHEVAL n° 5. — Baiard, 12 ans, acheté sur le marché de Saint-Louis. A déjà été infecté en septembre 1908 avec *Trypa-*

nosoma Pecaudi et a guéri à la suite d'un traitement par l'orpiment seul terminé le 9 novembre 1908. Inoculé sous la peau le 6 février 1909 avec du sang de chien infecté de Surra (origine dromadaire).

15 février. Trypan. rares. A. G. forte. 15^{gr} orpiment en électuaire. — 16. Trypan. rares. A. G. forte. — 17. 0 trypan. A. G. très forte. — 18. 0 trypan. A. G. notable. 20^{gr} orpiment. — 19. 20. Trypan. rares. A. G. forte. — 21. 0 trypan. A. G. très forte. 25^{gr} orpiment. — 22. Trypan. très rares. A. G. notable. — 23. 0 trypan. A. G. légère. — 24. Trypan. très rares. A. G. notable. 30^{gr} orpiment. — 25. Trypan. très rares. A. G. notable. — 26. 0 trypan. A. G. très forte. — 27. 0 trypan. A. G. forte. 30^{gr} orpiment. — 1^{er} mars. 0 trypan. A. G. notable. 35^{gr} orpiment. — 2, 3. 0 trypan. A. G. forte. — 5. 0 trypan. A. G. notable. 40^{gr} orpiment. — 15 jours de repos. — 10, 13, 15. 0 trypan. A. G. notable. — 16. Trypan. très rares. A. G. très forte. — 17, 18, 19. 0 trypan. A. G. forte. — 20. 0 trypan. A. G. notable. 25^{gr} orpiment. — 20. 0 trypan. A. G. notable. 30^{gr} orpiment. — 24. 0 trypan. A. G. légère. — 26. 0 trypan. A. G. légère. 30^{gr} orpiment. — 29. 0 trypan. A. G. légère. Fortes coliques dans la soirée. — 30. 0 trypan. A. G. notable. — 2 avril. 0 trypan. A. G. légère. 30^{gr} orpiment. — 4. 0 trypan. A. G. légère. — 5. 0 trypan. A. G. légère. 30^{gr} orpiment. — 8. 0 trypan. A. G. légère. 30^{gr} orpiment. Etat général excellent. Depuis le 9 avril jusqu'au 15 septembre, 0 trypan. A. G. légère d'abord, puis égale à 0. Du 6 au 16 mai, nous avons seulement observé une dépilation très intense. L'animal qui n'a pas rechuté 5 mois après la fin du traitement peut être considéré comme guéri.

CHEVAL n° 6. — 3 ans, Baiard, acheté sur le marché de Saint-Louis, a déjà été infecté en novembre 1908, de M' Bori, a guéri après traitement à l'émétique seul, terminé le 13 janvier (voir cheval n° 1).

Inoculé de nouveau sous la peau le 21 avril 1909, avec sang de chameau infecté de Surra. — 23. 0 trypan. A. G. notable. — 25. Trypan. non rares. A. G. forte. — 26. Trypan. nombreux. A. G. forte. 15^{gr} orpiment. — 27. Trypan. non rares. A. G. forte. — 28, 29. 0 trypan. A. G. forte. — 30. 0 trypan. A. G. forte. 20^{gr} orpiment. — 2 mai. 0 trypan. A. G. très forte. — 3. 0 trypan. A. G. notable. 25^{gr} orpiment. — 4. 0 trypan. A. G. forte. — 6. 0 trypan. A. G. notable. 25^{gr} orpiment. — 7. 0 trypan. A. G. forte. — 10. 0

trypan. A. G. forte. 25^{gr} orpiment. — 8 jours de repos. — 14, 17. 0 trypan. A. G. notable. — 21. Trypan. non rares. A. G. forte. 25^{gr} orpiment. — 22. Trypan. rares. A. G. forte. — 23. 0 trypan. A. G. forte. 30^{gr} orpiment. — 25. 0 trypan. A. G. forte. 30^{gr} orpiment. — 26, 27. 0 trypan. A. G. notable. — 28. 0 trypan. A. G. forte. 30^{gr} orpiment. — 29. 30. 0 trypan. A. G. forte. — 31. 0 trypan. A. G. forte. 30^{gr} orpiment. — 1^{er} juin. 0 trypan. A. G. forte. — 2. 0 trypan. A. G. très forte. 30^{gr} orpiment, 4, 5. 0 trypan. A. G. notable. — 6. 0 trypan. A. G. très forte. 30^{gr} orpiment. — 7, 8. 0 trypan. A. G. légère. — 9. 0 trypan. A. G. légère. 30^{gr} orpiment. — Du 10 juin au 15 septembre. 0 trypan. L'A. G. restée notable pendant longtemps a peu à peu diminué pour devenir égale à 0. L'animal a présenté également pendant longtemps de l'œdème des boulets et de l'émaciation musculaire. Ces symptômes dus à la stabulation ont disparu quelques jours après que ce cheval a été mis au travail. (Voiture à 4 roues, service journalier du village de ségrégation). A présenté au mois de juillet, une dépilation par plaques, assez accentuée. État général excellent, peut être considéré comme guéri.

III. — *Deux chevaux traités par l'émétique, associé à l'orpiment.*

CHEVAL n° 7. — Baiard, 12 ans, acheté sur le marché de Saint-Louis. Inoculé sous la peau le 25 novembre 1908 avec du sang de chien infecté de Surra (origine dromadaire).

10 décembre. Trypan. très rares. A. G. notable. — 11. 0 trypan. A. G. forte. Injection 1^{gr} émétique de K dans la jugulaire. — 12. 0 trypan. A. G. forte. — 13. 0 trypan. A. G. forte. 15^{gr} orpiment. — 15. 0 trypan. A. G. forte. 1^{gr}, 20 émétique. — 17. 0 trypan. A. G. notable. 20^{gr} orpiment. — 18. 0 trypan. A. G. forte. — 20. 0 trypan. A. G. forte. 1^{gr}, 20 émétique. — 22. 0 trypan. A. G. forte. 25^{gr} orpiment. — 25. 0 trypan. A. G. forte. 1^{gr}, 20 émétique. — 27. 0 trypan. A. G. notable. 30^{gr} orpiment. — 29. 0 trypan. A. G. légère. 1^{gr}, 20 émétique. — 31. 0 trypan. A. G. forte. 30^{gr} orpiment. — 8 jours de repos. — 4, 6 janvier. 09. 0 trypan. A. G. notable. — 8. 0 trypan. A. G. légère. 1^{gr}, 20 émétique. — 11. 0 trypan. A. G. forte. 20^{gr} orpiment. — 13. 0 trypan. A. G. notable. 1^{gr}, 20 émétique. — 15. 0 trypan. A. G. légère. 25^{gr} orpiment. — 17. 0 trypan. A. G. légère. 1^{gr}, 20 émétique. — 19.

0 trypan. A. G. légère. 30^{gr} orpiment. — 21. 0 trypan. A. G. légère. 1^{gr}, 20 émétique. — 23. 0 trypan. A. G. légère. 30^{gr} orpiment. — 25. 0 trypan. A. G. légère. 1^{gr}, 20 émétique. — 27. 0 trypan. A. G. légère. 30^{gr} orpiment. — Du 28 janvier au 15 septembre, 0 trypan; l'A. G. encore légère à la fin du traitement, diminue peu à peu pour disparaître. L'état général reste excellent; l'animal peut être considéré comme guéri.

CHEVAL n° 8. — Baiard, 10 ans, acheté sur le marché de Saint-Louis, inoculé sous la peau, le 27 décembre 1908, avec sang de chien infecté de Surra (origine dromadaire).

9 janvier 1909. Trypan. rares. A. G. forte. On fait avaler à l'animal 5^{gr} d'émétique de K en électuaire. — 10. Trypan. rares. A. G. forte. Injection 1^{gr} émétique de K dans la jugulaire. — 11. 0 trypan. A. G. forte. — 12. 0 trypan. A. G. forte. 15^{gr} orpiment. — 14. 0 trypan. A. G. notable. 1^{gr}, 20 émétique. — 16. 0 trypan. A. G. forte. 20^{gr} orpiment. — 18. 0 trypan. A. G. notable. 1^{gr}, 20 émétique. — 20. 0 trypan. A. G. légère. 25^{gr} orpiment. — 22. 0 trypan. A. G. légère. 1^{gr}, 20 émétique. — 24. 0 trypan. A. G. notable. 30^{gr} orpiment. — 26. 0 trypan. A. G. légère. 1^{gr}, 20 émétique. — 29. 0 trypan. A. G. légère. 30^{gr} orpiment. — Du 30 janvier au 15 septembre, 0 trypan. L'A. G. diminue de plus en plus, l'état général reste excellent. Le cheval employé par l'hôpital militaire fait un service régulier dans de très bonnes conditions, il peut être considéré comme guéri. Il est à noter que ce cheval a guéri en 20 jours avec 5 injections d'émétique et 5 ingestions d'orpiment seulement, c'est-à-dire un traitement de très courte durée et de moitié moins long que le précédent.

IV. — *Cinq chevaux traités par l'orpiment associé à l'atoxyl.*

CHEVAL n° 9. — 4 ans, Baiard, acheté sur le marché de Saint-Louis. Inoculé sous la peau le 23 octobre 1908 avec sang de chien infecté de Surra (origine dromadaire). — 29. Trypan. très rares. A. G. notable. — 31. 0 trypan. A. G. forte. Injection sous-cutanée de 5^{gr} atoxyl. Diarrhée liquide intense dans la journée. — 2 novembre. La diarrhée a cessé. 0 trypan. A. G. notable. — 3. 0 trypan. A. G. notable. 15^{gr} orpiment. — 5. 0 trypan. A. G. notable. 4^{gr} atoxyl — 6. Paralysie de l'arrière-main; l'animal ne peut se relever, il meurt dans l'après-midi d'intoxication.

CHEVAL 10. — Baiard, 12 ans, acheté sur le marché de Saint-Louis. Inoculé sous la peau le 4 avril 1909 avec sang de dromadaire infecté de Surra. — 9. Trypan. très rares. A. G. forte. — 11. 0 trypan. A. G. forte. Injection sous-cutanée 5^{gr} atoxyl. — 13. 0 trypan. A. G. forte. 15^{gr} orpiment. — 15. 0 trypan. A. G. forte. 5^{gr} atoxyl. Mauvais état général, démarche pénible, œdème des boulets. — 17. 0 trypan. A. G. forte. 20^{gr} orpiment. — 18. L'animal présente dans la matinée une violente excitation, cherche à piétiner des pieds de devant son palefrenier, et rue des pieds de derrière. Enfermé dans une écurie vide, il se met à tourner rapidement en cercle, pendant plusieurs heures jusqu'à ce qu'il tombe pour mourir vers 3 heures de l'après-midi. Mort intoxiqué.

CHEVAL n° 11. — Baiard, 20 ans, donné par son propriétaire pour servir aux expériences. (Même cheval que le n° 3; rechute après un traitement à l'émétique seul).

12 mai. Trypan. nombreux. A. G. forte. Injection sous-cutanée 2^{gr} atoxyl. — 15. 0 trypan. A. G. forte. 15^{gr} orpiment. — 19. 0 trypan. A. G. notable. 2^{gr} atoxyl. — 21. 0 trypan. A. G. notable. 20^{gr} orpiment. — 23. Trypan. rares. A. G. notable. 2^{gr}, 50 atoxyl. — 24. Trypan. rares. A. G. forte. — 25. 0 trypan. A. G. forte. 25^{gr} orpiment. — 27. Trypan. rares. A. G. forte. 2^{gr}, 50 atoxyl. — 28. 0 trypan. A. G. forté. — 29. 0 trypan. A. G. forte. 30^{gr} orpiment. — 30. 0 trypan. A. G. forte. 2^{gr}, 50 atoxyl. — 2 juin. 0 trypan. A. G. forte. 30^{gr} orpiment. — 8 jours de repos. — 4 au 9. 0 trypan. A. G. notable. — 10. 0 trypan. A. G. forte. 2^{gr}, 50 atoxyl. — 10. 0 trypan. A. G. très forte. 15^{gr} orpiment. — 15. 0 trypan. A. G. forte, 2^{gr}, 50 atoxyl. — 17. 0 trypan. A. G. forte. 20^{gr} orpiment. — 19. 0 trypan. A. G. forte. 2^{gr}, 50 atoxyl. — 21. 0 trypan. A. G. légère. 25^{gr} orpiment. — 23. Trypan. rares. A. G. légère. 2^{gr}, 50 atoxyl. — 25. 0 trypan. A. G. forte. 30^{gr} orpiment. — 27. 0 trypan. A. G. forte. 3^{gr}, 50 atoxyl. — 29. 0 trypan. A. G. forte. 30^{gr} orpiment. — 2 juillet. Trypan. très rares. A. G. forte. Mauvais état général. En présence des rechutes constantes de l'animal en fin traitement, on le fait abattre.

CHEVAL n° 12. Baiard, 10 ans, acheté sur le marché de Saint-Louis. Inoculé sous la peau, le 22 avril 1909, avec sang de dromadaire infecté de Surra. — 26. Trypan. nombreux. A. G. forte. — 27. 0 trypan. A. G. forte. Injection sous-cutanée 3^{gr} atoxyl.

Après l'injection, l'animal se couche et présente de l'essoufflement et des coliques passagères. — 30. 0 trypan. A. G. notable. 15^{gr} orpiment. — 3 mai. 0 trypan. A. G. forte. 2^{gr} atoxyl. — 5. 0 trypan. A. G. légère. 20^{gr} orpiment. — 8. 0 trypan. A. G. notable. 2^{gr} atoxyl. — 10. 0 trypan. A. G. forte. 25^{gr} orpiment. — 12. 0 trypan. A. G. forte. 2^{gr} atoxyl. — 15. 0 trypan. A. G. très forte. 25^{gr} orpiment. — 16. Trypan, nombreux A. G. légère. — 17. 0 trypan. A. G. forte. 2^{gr} atoxyl. — 19. 0 trypan. A. G. forte. 25^{gr} orpiment. — 8. jours de repos. — 23, 25. 0 trypan. A. G. forte. — 27. Trypan, rares. A. G. forte. 2^{gr} atoxyl. — 29. 0 trypan. A. G. forte. 2^{gr} atoxyl. — 2 juin. 0 trypan. A. G. forte. 20^{gr} orpiment. — 4. 0 trypan. A. G. forte. 2^{gr}, 50 atoxyl. — 5. Trypan, non rares. A. G. légère. — 6. 0 trypan. A. G. forte. 30^{gr} orpiment. — 8. 0 trypan. A. G. légère. 2^{gr} 50 atoxyl. — 9. Trypan, rares. A. G. forte. Mauvais état général; rechutes fréquentes au moment de la fin du traitement, l'animal est abattu.

CHEVAL n° 13. — Baiard, 10 ans, acheté sur le marché de Saint-Louis. Inoculé sous la peau le 5 avril 1909 avec du sang de dromadaire infecté de Surra. — 10. Trypan, nombreux. A. G. légère. — 11. Trypan, rares. A. G. forte. Injection sous-cutanée. 5^{gr} atoxyl. — 13. 0 trypan. A. G. forte. 15^{gr} orpiment. — 15. 0 trypan. A. G. forte. 5^{gr} atoxyl. Mauvais état général, démarche pénible, œdème des boulets. — 17. 0 trypan. A. G. forte. 20^{gr} orpiment. — 19. 0 trypan. A. G. forte, 5^{gr} atoxyl. — 21. 0 trypan. A. G. légère, état général meilleur, l'œdème des boulets a disparu. — 23. 0 trypan. A. G. forte, état général satisfaisant. — 24. 0 trypan. A. G. légère. 20^{gr} orpiment. — 27. 0 trypan. A. G. notable. 3^{gr} atoxyl. Essoufflement, coliques. — 29. 0 trypan. A. G. forte. 20^{gr} orpiment. — 3 mai. 0 trypan. A. G. très forte. 2^{gr} atoxyl. — 5. 0 trypan. A. G. forte. 25^{gr} orpiment. — 8 jours de repos. — 7, 9, 11. 0 trypan. A. G. notable. — 13. 0 trypan. A. G. forte. Atoxyl 2^{gr}. — 15. 0 trypan. A. G. forte. 15^{gr} orpiment. — 17. 0 trypan. A. G. légère. 2^{gr} atoxyl. — 19. 0 trypan. A. G. 0. 20^{gr} orpiment. — 21. 0 trypan. A. G. légère. 2^{gr}, 50 atoxyl. — 23. 0 trypan. A. G. 0. 20^{gr} orpiment. — 25. 0 trypan. A. G. forte. 2^{gr}, 50 atoxyl. — 27. 0 trypan. A. G. notable. 25^{gr} orpiment. — 29. 0 trypan. A. G. forte. 2^{gr}, 50 atoxyl. — 31. 0 trypan. A. G. notable. 30^{gr} orpiment. — Du 31 mai au 15 septembre. 0 trypan. L'A. G. arrive très vite à être égale à 0. L'état général est excellent,

l'animal peut être considéré comme guéri. Il est mis à la voiture (service de la Mauritanie).

Au cours de ces expériences, nous avons pu faire de très intéressantes constatations ; notre virus a été conservé, un certain temps, par passages sur chiens. Il nous a paru, à un moment donné, qu'il avait baissé beaucoup de virulence ; c'est ainsi, qu'après inoculation, les parasites mettaient quelquefois 10 à 15 jours à apparaître dans le sang du cheval. Nous avons même, au mois d'avril 1909, perdu notre virus sur un chien peu infecté, qui a cessé définitivement de montrer des parasites, heureusement avons-nous à ce moment-là un cheval inoculé de Surra de même provenance. Schilling a signalé des faits semblables pour le Nagana, et il a même proposé d'atténuer le virus par passages sur chien, dans le but d'obtenir un vaccin. Les passages successifs de Surra par chevaux, semblent arriver aussi à la diminution de la virulence, surtout lorsque ces passages sont peu fréquents et que le virus reste longtemps sur le même animal. Montgomery (1), Pease et Gaiger (2), ont déjà signalé l'influence des Camélidés sur le développement du Surra dans l'Inde ; aussi avons-nous eu l'idée de repasser notre Surra affaibli sur le dromadaire qui semble au Sénégal, et surtout en Mauritanie, être le véritable réservoir naturel de *Trypanosoma Evansi*. Le résultat a été concluant : au bout d'un seul passage sur dromadaire, les parasites inoculés directement au cheval, apparaissaient dans le sang 4 à 5 jours après l'inoculation, et les animaux infectés présentaient des symptômes de maladie à marche suraiguë, tels qu'amaigrissement très rapide, cachexie, œdèmes, hémorragies de la muqueuse buccale et des conjonctives, telles qu'un de nos chevaux présentait un écoulement palpébral de larmes sanguinolentes. Cette constatation entraîne immédiatement la mesure prophylactique suivante : on ne doit pas, dans les pays à Surra, laisser les chevaux pâturer dans le voisinage des chameaux. Il faudra, en pays militaire, veiller à éloigner autant que possible les campements de méharistes, de ceux des cavaliers (spahis).

On peut aussi déduire des observations précédentes, la raison

(1) MONTGOMERY. On the prophylaxis of trypanosomiasis with the particulare reference of the influence of the Camel in India. *Journ. of trop. veter. sc.*, t. III, f. 3, juill. 1908, p. 301-329.

(2) PEASE et S. H. GAIGER. Notes of the duration and course of Camel Surra. *Journ. of trop. veter. sc.*, t. III, f. 4., nov, 1908, p. 427-433.

pour laquelle le Surra s'arrête nettement dans l'Afrique du Nord, à une certaine latitude, 16° environ, pour le Sénégal, alors que, plus au sud, les tabanides sont plus répandus que les glossines, et qu'il y a encore des chevaux en assez grand nombre. Si l'on considère en effet, que le 16° degré est aussi au Sénégal, la limite des régions où peut vivre le dromadaire, on peut penser que le Surra disparaît au-dessous, par suite de la disparition du réservoir de virus. D'ailleurs, la distribution du Surra coïncide exactement avec l'habitat des Camélidés. Il n'y a, croyons-nous, qu'une exception à cette règle, c'est sa présence à Maurice, encore est-il que, dans cette île, les bœufs, de provenance et de race indoue, semblent pouvoir servir de réservoir de virus. Parmi les bœufs du Sénégal, la race de la Mauritanie qui n'est pas très éprouvée par le Surra au nord du Sénégal et pourrait vraisemblablement servir de réservoir de virus, ne dépasse pas les mêmes limites que le dromadaire, parce que plus au sud, elle ne résiste pas, ainsi que nous l'avons démontré (1), aux trypanosomiasés à glossines.

Nous pensons que le Gouvernement de Maurice aurait avantage à remplacer son bétail d'origine indoue par des races de l'Afrique australe, qui seraient peut-être non pas moins sensibles au Surra, mais moins aptes à constituer un réservoir de virus et à prolonger l'épizootie.

Nous résumons ci-après dans un tableau, les résultats thérapeutiques obtenus. Nous donnons la préférence au traitement mixte, orpiment-émétique (2 guérisons, sur 2 traités) qui, très actif, peut, dans certains cas, être très court, 20 jours pour le cheval qui fait le sujet de l'observation, n° 8 et qui a guéri avec 5 injections intraveineuses d'émétique et 5 ingestions d'orpiment.

Etant donnée la difficulté relative de pratiquer des injections intraveineuses d'émétique, nous conseillons aux personnes qui n'ont pas une grande habitude de ces injections, le traitement par l'orpiment seul, qui est plus long, mais nous a donné des résultats tout aussi bons, 2 animaux guéris, sur 2 traités.

L'émétique employé seul, donne de moins bons résultats que

(1) THIROUX, WURTZ et TEPPAZ. La maladie du sommeil et les trypanosomiasés animaux sur la petite côte et dans la région des Niayes au Sénégal. *Ann. de l'Institut Pasteur*, juillet 1908, p. 585.

les deux traitements précédents, nous n'avons obtenu avec cette médication que 2 succès sur 4 animaux traités.

TABLEAU DES RÉSULTATS OBTENUS DANS LE TRAITEMENT DU SURRA DU CHEVAL

NATURE du traitement.	NOMBRE des animaux traités.	INTOXICATIONS	RECHUTES	GUÉRISONS	PROPORTION des succès.
Éméétique seul.....	4	0	2	2	2/4
Orpiment seul.....	2	0	0	2	2/2
Éméétique-orpiment.....	2	0	0	2	2/2
Atoxyl-orpiment.....	5	2	2	1	1/5
Total	13	2	4	7	7/13

Nous ne pouvons conseiller l'emploi de l'atoxyl qu'avec une extrême prudence chez des chevaux dont la sensibilité vis-à-vis de ce médicament n'est pas parfaitement connue. Des doses de moins de 4 grammes nous semblent insuffisantes.

Les rechutes au début et même au milieu du traitement n'empêchent pas les animaux de guérir, elles ne peuvent être considérées comme d'un mauvais pronostic que lorsqu'elles se reproduisent jusqu'à la fin du traitement. Un certain nombre de nos chevaux ont en effet guéri après avoir fait plusieurs rechutes au cours du traitement.

Nous avons enfin observé des dépilations étendues après la fin de la médication chez des animaux dont la guérison s'est affirmée depuis. Ces dépilations ne doivent donc *pas toujours* être considérées comme un signe d'infection. Elles semblent, au contraire, dans les deux cas que nous avons observés, coïncider avec une période de convalescence.

Saint-Louis, le 14 septembre 1909.

Traitement du Surra chez le dromadaire

par l'orpiment seul

ou associé à l'émétique ou à l'atoxyl.

PAR M. A. THIROUX

*Médecin de première classe des troupes coloniales, directeur du laboratoire
de Bactériologie de Saint-Louis, et*

L. TEPPAZ

*Vétérinaire en second hors-cadre, détaché au service de l'Agriculture du Sénégal
(Travail du Laboratoire de Bactériologie de Saint-Louis)*

Au cours de nos expériences sur le traitement des trypanosomiasés des chevaux (1) nous fûmes priés par M. le Commissaire général du Gouvernement en Mauritanie de nous occuper des trypanosomiasés des dromadaires qui occasionnent tous les ans des pertes très sérieuses à notre cavalerie de méharistes en Mauritanie. Le colonel Gouraud nous fit en même temps remettre deux dromadaires surrés pour les essais. De ces 2 animaux, l'un mourut au bout de 6 jours, 1 seul put donc être utilisé pour nos expériences. C'est sur cet animal qu'a été pris le virus qui nous a servi pour nos études sur le traitement du surra du cheval. Plus tard, lorsque nous avons voulu accroître la virulence de *Trypanosoma Evansi*, nous avons acheté sur le marché de Saint-Louis un chamelon de 3 ans qui, après nous avoir rendu un virus renforcé, nous a servi pour des expériences de traitement.

Nous avons d'abord expérimenté avec l'orpiment seul, mais ce médicament, si merveilleusement efficace chez le cheval, est très

(1) THIROUX et TEPPAZ. Traitement des Trypanosomiasés chez les chevaux par l'orpiment seul ou associé à l'atoxyl. *Ann. de l'Institut Pasteur*, mars 1909, p. 24, et mai 1909, p. 426.

mal supporté par le dromadaire; à la dose de 20 grammes, il occasionne déjà de la diarrhée, il cesse d'être absorbé, reste sans action sur les parasites, et il est inutile dans ces conditions d'en augmenter les doses. Pour être efficace, le médicament devrait pouvoir être donné en quantité plus grande qu'au cheval; le dromadaire étant un animal beaucoup plus gros, nous estimons qu'il faudrait qu'il pût supporter sans diarrhée 60 grammes d'orpiment, or il ne supporte même pas les doses de 20 à 30 grammes que l'on donne couramment aux chevaux.

L'insuffisance du médicament est manifeste, et chez ces dromadaires traités par l'orpiment, qui présentent une diarrhée continue, les parasites réapparaissent constamment au cours du traitement. Cela est d'autant plus regrettable qu'il est très commode de faire prendre l'orpiment en bol aux chameaux; l'animal, une fois couché, les pieds attachés, est sans défense, sa gueule est moins profonde que celle du cheval et les bols sont plus facilement portés jusqu'à la base de la langue.

L'émétique a été employé en injections intraveineuses dans la jugulaire, l'injection se fait plus facilement que chez le cheval, à la condition de prendre la jugulaire très haut et presque directement au dessous du maxillaire inférieur. Nous avons injecté 1 gr, 50 d'émétique en solution dans 50 c. c. d'eau physiologique tous les 5 jours (5 injections). L'animal a rechuté au bout de 21 jours, mais il n'a jamais présenté de trypanosomes dans son sang pendant la durée du traitement.

La médication émétique-orpiment a été aussi tentée chez le même animal, mais il était déjà trop fatigué et il est mort au bout de 10 jours.

Le traitement atoxyl-orpiment a été essayé chez un second dromadaire. L'atoxyl a été injecté sous la peau à la dose de 4 à 5 grammes, l'orpiment administré en bols, alternativement, avec 1 jour de repos entre les 2 médications. 2 séries de 5 doses de chacune séparées par 8 jours de repos :

1^{er} jour, 4 grammes atoxyl; 3^e jour, 20 grammes orpiment; 5^e jour, 4^{gr},5 atoxyl; 7^e jour, 25 grammes orpiment; 9^e jour, 4 grammes, 5 atoxyl; 11^e jour, 25 grammes orpiment; 13^e jour, 4^{gr},5 atoxyl; 15^e jour, 20 grammes orpiment; 17^e jour, 4^{gr},5 atoxyl; 19^e jour, 20 grammes orpiment; 8 jours de repos et 2^e série semblable à la première.

L'animal a rechuté au bout de 21 jours sans avoir présenté de parasites dans son sang pendant toute la durée du traitement. Comme dans les expériences précédentes, l'orpiment a été mal supporté et a occasionné de la diarrhée. L'atoxyl semble au contraire bien toléré par les dromadaires.

OBSERVATIONS

I. — *Traitement par l'orpiment seul.*

Dromadaire n° 1. — Animal jeune, 3 ans environ, nous a été confié par le colonel Gouraud pour essais de traitement. Présente des Trypanosomes pouvant être identifiés avec *Trypanosoma Evansi*. Animal amaigri et en assez mauvais état. — 17 août 1908. Trypan. très rares. A. G. 0. — 18. Trypan. non rares. A. G. 0. 15^{gr} orpiment en un bol. — 19. Trypan. nombreux. A. G. notable. — 20. Trypan. nombreux. A. G. notable. 20^{gr} orpiment. — 21. 0 trypan. A. G. 0. — 22. Trypan. non rares. A. G. 0. — 23. Trypan. rares. A. G. 0. 30^{gr} orpiment. — 24. 0 trypan. A. G. 0. Diarrhée abondante. — 25. 0 trypan. A. G. 0. La diarrhée a presque complètement disparu. — 27. 0. trypan. A. G. très légère. 30^{gr} orpiment. — 28. Encore un peu de diarrhée; abcès du pied antérieur droit. — 31. 0. trypan. A. G. légère, la diarrhée a disparu. 30^{gr} orpiment. — 3 septembre. 0. trypan. A. G. 0. 35^{gr} orpiment. — 4. 0 trypan. A. G. légère. Diarrhée abondante. — 5. 0 trypan. A. G. légère, la diarrhée a cessé. — 7. 0 trypan. A. G. 0. 35^{gr} orpiment. — 8. diarrhée très abondante avec amaigrissement sensible. — 9. 0 trypan. A. G. 0; la diarrhée a cessé. — 11. Trypan. très rares. A. G. légère. 30^{gr} orpiment. — 13. Trypan. non rares. A. G. notable. — 14. Trypan. très rares. 30^{gr} orpiment. — 6 jours de repos. — 15. Diarrhée légère. — 16, 18, 19, 0 trypan. A. G. 0. — 22. 0 trypan. A. G. légère. 25^{gr} orpiment. — 23. diarrhée. — 25. Trypan. très rares. A. G. notable. 30^{gr} orpiment. — 28. 0 trypan. A. G. 0. 35^{gr} orpiment. — 2. octobre. 0 trypan. A. G. légère. 40^{gr} orpiment. — 5. 0 trypan. A. G. 0. 45^{gr} orpiment. — 8. 0 trypan. A. G. 0. 50^{gr} orpiment. — 10. Diarrhée très abondante. 0 trypan. A. G. 0. — 12. La diarrhée a disparu. — 13. 0 trypan. A. G. 0. 50^{gr} orpiment. — 15, 17, 0 trypan. A. G. 0. — 21. Rechute, trypan.

très rares. A. G. notable. L'animal est immédiatement soumis au traitement à l'émétique de potasse.

II. — *Traitement par l'émétique seul.*

Dromadaire n° 2. — C'est l'animal de l'observation précédente qui vient de rechuter après un traitement à l'orpiment seul; l'animal est très maigre, mais l'état général est encore bon. — 21 octobre 1908. Trypan. très rares. A. G. notable. — 22. Trypan. rares A. G. légère. Injection. 1^{er}, 50 émétique dans la jugulaire. — 27. 0 trypan. A. G. légère. 1^{er}, 30 émétique. — 29. 0 trypan. A. G. 0. — 2 novembre. 0 trypan. A. G. 0. 1^{er}, 50 émétique. — 3, 5. 0 trypan. A. G. 0. — 7. 0 trypan. A. G. 0. 1^{er}, 50 émétique. — Du 13 novembre au 2 décembre. 0 trypan. A. G. 0. — 3. Rechute. Trypan. rares. A. G. légère. — L'animal est en mauvais état on tente néanmoins encore de le traiter par la médication mixte : émétique — orpiment.

III. — *Traitement émétique-orpiment.*

Dromadaire n° 3. C'est l'animal des 2 observations précédentes qui a rechuté une 2^e fois, l'observation est à peine ébauchée, l'animal très fatigué mourut en effet au bout de 10 jours. — 3 décembre 1908. Trypan. rares. A. G. légère. — 6. 0 trypan. A. G. légère. Injection 1^{er} émétique dans la jugulaire. — 9. 0 trypan. A. G. légère. 20 grammes orpiment additionné de 80 centigrammes d'extrait d'opium. — 10. 0 trypan. A. G. 0. Diarrhée abondante. 30^{es} orpiment additionnés de 80 centigrammes extrait d'opium. — 11. 0 trypan. A. G. 0. Diarrhée abondante. 1^{er} émétique. — 12. La diarrhée est toujours très abondante, l'animal ne veut plus se lever. Il meurt le 13.

IV. — *Traitement atoxyl-orpiment.*

Dromadaire n° 4. Agé de 2 ans 1/2 environ, acheté sur le marché de Saint-Louis. Inoculé le 18 mars 1907 avec du sang de cheval infecté de Surra (origine dromadaire n° 1, virus continué sur chiens) — 24. Trypan. non rares. A. G. 0. — Du 1^{er} au 29 avril. Trypan. nombreux. — 30. Trypan. nombreux. A. G. notable. 15^{es} orpiment en un bol. — 2 mai. 0 trypan. A. G. 0. Diarrhée abondante. — 4. 0 trypan. A. G. 0; la diarrhée a cessé. — 5. 0 trypan. A. G. 0. 15^{es} orpiment. — 6. 7. Trypan. non rares. A. G. légère. — 8. Trypan. nombreux. A. G. légère. Injection sous-cutanea-

née de 4^{gr} atoxyl. — 9. Trypan. très rares. A. G. notable. — 10. Trypan. très rares. A. G. 0. 20^{gr} orpiment. — 11. 0. trypan. A. G. 0. — 12. 0 trypan. A. G. 0. 4^{gr}, 5 atoxyl. — 14. 0 trypan. A. G. 0. 25^{gr} orpiment. — 17. 0 trypan. A. G. légère. 4^{gr} atoxyl. — 21. 0 trypan. A. G. 0. 25^{gr} orpiment. — 22, 25. 0 trypan. A. G. légère; diarrhée abondante. — 26. 0 trypan. A. G. 0. Diarrhée terminée. — 27. 0 trypan. A. G. 0. 4^{gr}, 5 atoxyl. — 30. 0 trypan. A. G. légère. 20^{gr} orpiment. — 1^{er} juin. 0 trypan. A. G. 0. 4^{gr}, 5 atoxyl. — 4. 0 trypan. A. G. légère. 20^{gr} orpiment. — 8. 0 trypan. A. G. légère. 4^{gr}, 5 atoxyl. — 9. 10. 0 trypan. A. G. 0. — 11. 0. trypan. A. G. 0. 20^{gr} orpiment. — 8 jours de repos. — 14. 0. trypan. A. G. 0. — 20. 0 trypan. A. G. 0. 4^{gr} atoxyl. — 22. 0. trypan. A. G. 0. 15^{gr} orpiment. — 28. 0 trypan. A. G. 0. 4^{gr} atoxyl. — 1^{er} juillet. 0 trypan. A. G. légère. 20^{gr} orpiment. — 3. 0 trypan. A. G. légère. Diarrhée abondante, — 5. 0 trypan. A. G. légère; la diarrhée est terminée. 4^{gr}, 5 atoxyl. — 7. 0 trypan. A. G. 0. 20^{gr} orpiment. — 12. 0 trypan. A. G. légère. 5^{gr} atoxyl. — 15. 0 trypan. A. G. 0. 20^{gr} orpiment. — 18. 0 trypan. A. G. 0. 5^{gr} atoxyl. — 22. 0 trypan. A. G. 0. 20^{gr} orpiment. — 10 août. Rechute; trypan. nombreux. A. G. notable; état général mauvais; l'animal est abattu.

Des observations qui précèdent, on ne saurait conclure d'une façon absolue, les animaux mis en expérience étant trop peu nombreux. Il y a cependant quelques faits qui se dégagent nettement; l'orpiment, qui donne de si bons résultats chez le cheval, ne peut pas être employé à doses suffisamment élevées pour être efficaces, chez les Camélidés, qui le supportent mal. L'atoxyl, au contraire, mal toléré par les chevaux semble ne présenter, vis-à-vis du dromadaire, que des propriétés peu toxiques. Il y aurait lieu de reprendre les expériences de traitement avec ce médicament seul ou associé à l'émétique, dont l'emploi n'a peut-être pas été poursuivi assez longtemps, dans la seule expérience que nous ayons faite.

Les doses d'émétique pourraient peut-être aussi, comme celles d'atoxyl, être augmentées dans une assez large proportion.

Un fait assez curieux, que nous avons observé au cours de ces expériences, est le suivant: l'agglutination globulaire, toujours très marquée chez le cheval trypanosomé est, au contraire, souvent nulle ou très faible chez les dromadaires infectés.

Statistique Antirabique de l'Institut Pasteur de Charkow

POUR UNE PÉRIODE DE VINGT ET UN ANS (1888-1909)

PAR LE D^r KOZEVALOFF (*assistant*)

L'Institut Pasteur de Charkow a été inauguré le 20 avril 1887, par la Société des Médecins de Charkow. Actuellement, il fait partie de l'Institut bactériologique de cette Société.

Du 1^{er} janvier 1888, au 1^{er} janvier 1909, c'est-à-dire durant vingt et un ans, 25,608 personnes ont subi le traitement antirabique. Dans ce nombre de 25,608 on comprend 8,780 cas d'enfants au-dessous de dix ans, soit 34 0/0. 24,051 personnes ont été mordues par des animaux suspects de rage. 1,557 personnes ont eu contact d'une façon quelconque, avec des animaux suspects. D'après le degré de la certitude de la rage des animaux mordeurs, les 24,051 individus mordus, cités plus haut, sont répartis en 3 catégories :

A. La rage de l'animal mordeur a été vérifiée expérimentalement. 2,077 personnes, 8,5 0/0.

B. La rage a été vérifiée par l'examen vétérinaire. 2,393 personnes, 10 0/0.

C. L'animal mordeur était suspect de rage. 19,581 personnes, 81,5 0/0.

D'après la place de la morsure :

Mordues à la tête, à la face.....	2,025 personnes	8,4 0/0
— aux membres supérieurs...	12,969	— 34 0/0
— — — inférieurs...	6,880	— 28,6 0/0
— au tronc	1,154	— 4,8 0/0
— aux autres part. du corps...	1,023	— 4,2 0/0

D'après l'espèce d'animaux mordeurs :

— — chiens	21,774 personnes	90,6 0/0
— — chats	1,480	— 1,1 0/0
— — loups.....	283	— 1,2 0/0
— autres animaux.....	514	— 2,1 0/0

Sur 24,051 personnes mordues, 267 sont mortes de rage. La mortalité totale est donc de 1,11 0/0. 162 personnes sont mortes dans les 15 jours qui ont suivi la fin du traitement; la mortalité réduite est alors de 0,67 0/0.

Sur 21,774 personnes mordues par des chiens, 215 sont mortes. Mortalité totale : 0,98 0/0.

Sur 283 personnes mordues par des loups, sont mortes 46. Mortalité totale : 16,25 0/0.

Sur 1,480 personnes mordues par des chats, mortes 6. Mortalité totale : 0,4 0/0.

Sur 514 personnes mordues par d'autres animaux, pas de mortalité.

Sur 2,025 personnes mordues à la face, à la tête, mortes 148. Mortalité totale : 7,30 0/0.

Sur 12,969 personnes mordues aux membres supérieurs, mortes 102.

Mortalité totale : 0,78 0/0.

Sur 6,880 personnes mordues aux membres inférieurs, mortes 17.

Mortalité totale : 0,24 0/0.

Sur 1154 personnes mordues au tronc, aucune mort de signalée.

Dans 212 cas de rage, la période d'incubation est déterminée, elle oscille comme suit :

Jusqu'à 20 jours chez 29 individus, 13 0/0.

De 20 à 40 jours chez 86 individus, 40,6 0/0.

De 40 à 60 jours chez 53 individus, 25 0/0.

De 60 à 80 jours chez 13 individus, 61 0/0.

De 80 à 100 jours chez 9 individus, 4,2 0/0.

De 100 à 200 jours chez 14 individus, 6,6 0/0.

Au delà de 200 jours chez 8 individus, 3,8 0/0.

Une période d'incubation de 12 à 15 jours a été observée dans 9 cas, 4,2 0/0. La période d'incubation minime de 12 jours, fut observée chez une fillette de 2 ans mordue par un loup, à la face et à la tête, lésions étendues. Dans 3 cas, la période d'incubation a duré plus d'un an.